



<p>(51) 国際特許分類6 C30B 29/58, C07H 21/00, C07K 1/14, C08H 1/00, C12N 9/00</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO98/02601</p> <p>(43) 国際公開日 1998年1月22日 (22.01.98)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP97/02359</p> <p>(22) 国際出願日 1997年7月8日 (08.07.97)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平8/205411 1996年7月15日 (15.07.96) JP 特願平8/253793 1996年9月3日 (03.09.96) JP 特願平8/319279 1996年11月29日 (29.11.96) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 住友金属工業株式会社 (SUMITOMO METAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP] 〒541 大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 三城 明 (SANJOH, Akira) [JP/JP] 〒541 大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号 住友金属工業株式会社内 Osaka, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 深見久郎, 外 (FUKAMI, Hisao et al.) 〒530 大阪府大阪市北区南森町2丁目1番29号 住友銀行南森町ビル Osaka, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 CA, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54) Title: EQUIPMENT FOR CRYSTAL GROWTH AND CRYSTAL-GROWING METHOD USING THE SAME</p> <p>(54) 発明の名称 結晶成長用装置およびそれを用いる結晶成長方法</p> <p>(57) Abstract</p> <p>Equipment for accelerating the crystallization of biopolymers such as a protein; and a method therefor. A plurality of solution-reserving areas (12a, 12b, 12c, 12d, 14) are formed on a silicone base material controlled in the valence electrons by selecting the content and/or kind of a dopant; these areas are connected via flow channels (16a, 16b, 16c and 26); a buffer solution containing a biopolymer such as a protein is put in the area (12d), while solutions for accelerating the crystallization of the biopolymer are put in the areas (12a, 12b and 12c), respectively; these solutions are transferred to the area (14) through the channels (16a, 16b, 16c and 26) to prepare mixtures having various ratios, by which mixtures differents in crystallization conditions can simultaneously be formed even from a small amount of a sample in a short time; the crystal of the biopolymer is made to grow in the area (14); and the crystal growth of the biopolymer is controlled by virtue of the surface electrical characteristics of the base material brought about by the controlled valence electrons.</p> <div data-bbox="966 1291 1388 1900"> </div>		

(57) 要約

蛋白質等の生体高分子の結晶化を促進できる装置および方法を提供する。不純物の濃度および／または種類を制御することによって価電子が制御されたシリコン基板上に、複数の溶液貯留部（12a、12b、12c、12d、14）を形成する。これらの溶液貯留部は流路（16a、16b、16c、26）によって連結されている。蛋白質等の結晶化すべき分子を含む緩衝溶液を貯留部（12d）に保持させる。また蛋白質等の結晶化を促進することのできる溶液を貯留部（12a、12b、12c）にそれぞれ保持させる。これらの溶液を流路（16a、16b、16c、26）を介して溶液貯留部（14）に移行させそれぞれの貯留部（14）において異なる比率で混合液を調製する。これにより、僅かな試料で短時間に異なる結晶化の条件を同時に形成することができる。混合液を保持する貯留部14において蛋白質等の結晶を成長させる。結晶の成長は、価電子制御によりシリコン基板表面にもたらされる電気的特性によって制御される。

参考情報

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に記載されたPCT加盟国を特定するために使用されるコード

AL	アルバニア	ES	スペイン	LR	リベリア	SG	シンガポール
AM	アルメニア	FI	フィンランド	LS	レソト	SI	スロヴェニア
AT	オーストリア	FR	フランス	LT	リトアニア	SK	スロヴァキア共和国
AU	オーストラリア	GA	ガボン	LU	ルクセンブルグ	SL	セネガール
AZ	アゼルバイジャン	GB	英国	LV	ラトヴィア	SN	セネガル
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	MC	モナコ	SZ	スワジランド
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MD	モルドヴァ共和国	TD	チャド
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MG	マダガスカル	TG	トーゴ
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TJ	タジキスタン
BG	ブルガリア	GR	ギリシャ	ML	マリ	TM	トルクメニスタン
BJ	ベナン	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TR	トルコ
BR	ブラジル	ID	インドネシア	MR	モリタニア	TT	トリニダード・トバゴ
BY	ベラルーシ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UA	ウクライナ
CA	カナダ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UG	ウガンダ
CF	中央アフリカ共和国	IS	アイスランド	NE	ニジェール	US	米国
CG	コンゴ	IT	イタリア	NL	オランダ	UZ	ウズベキスタン
CH	スイス	JF	日本	NO	ノルウェー	VN	ヴェトナム
CI	コート・ジボアール	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド	YU	ユーゴスラビア
CM	カメルーン	KG	キルギスタン	PL	ポーランド	ZW	ジンバブエ
CN	中国	KR	朝鮮民主主義人民共和国	PT	ポルトガル		
CU	キューバ	KZ	カザフスタン	RO	ルーマニア		
CZ	チェコ共和国	LC	セントルシア	RU	ロシア連邦		
DE	ドイツ	LI	リヒテンシュタイン	SD	スーダン		
DK	デンマーク	LV	ラトヴィア				
EE	エストニア						

明細書

結晶成長用装置およびそれを用いる結晶成長方法

5 技術分野

本発明は、高分子化合物の結晶化を行なうための技術に関し、特に、価電子が制御された半導体基板等を用いて、蛋白質を初めとする種々の生体高分子の結晶化を行なうための技術に関する。

10 背景技術

蛋白質を初めとする各種生体高分子およびそれらの複合体における特異的性質および機能を理解する上で、それらの詳細な立体構造は不可欠な情報となっている。たとえば、基礎化学的な観点からは、蛋白質等の3次元構造の情報が、酵素やホルモン等による生化学系での機能発現のメカニズムを理解する上で基礎となる。また、産業界のうち特に薬学、遺伝子工学、化学工学の分野においては、3次元構造は、ドラッグデザイン、プロテインエンジニアリング、生化学的合成等を進める上で合理的な分子設計に欠かせない情報を提供する。

このような生体高分子の原子レベルでの3次元立体構造情報を得る方法としては、現在のところX線結晶構造解析が最も有力かつ高精度な手段である。近年のX線光源・回折装置のハードウェア上の改良による測定時間の短縮、測定精度の向上に加え、コンピュータの計算処理速度の飛躍的な向上により、解析スピードが大幅に向上してきている。今後も、この手法を主流として3次元構造が明らかにされていくものと思われる。

一方、X線結晶構造解析により生体高分子の3次元構造を決定するためには、目的とする物質を抽出・精製後、結晶化することが必須となる。しかし、現在のところ、どの物質に対しても適用すれば必ず結晶化できるといった手法および装置がないため、勘と経験に頼ったトライアンドエラーを繰り返しながら結晶化を進めているのが実状である。生体高分子の結晶を得るためには、非常に多くの実験条件による探索が必要であり、結晶成長がX線結晶解析の分野での最も大きなボ

トルネックとなっている。

5 蛋白質等の生体高分子の結晶化は、通常は無機塩等の低分子量化合物の場合と同様、高分子を含む水または非水溶液から溶媒を奪う処理を施すことにより、過飽和状態にして、結晶を成長させるのが基本となっている。このための代表的な方法として、(1) バッチ法、(2) 透析法、(3) 拡散法があり、試料の種類、量、性質等によって使い分けられている。

10 バッチ法は、生体高分子を含む溶液に、水和水を奪う沈殿剤を直接添加して、生体高分子の溶解度を低下させ、固相へ変化させる方法である。この方法では、たとえば固体の硫酸アンモニウム（硫安）がよく使用される。この方法は、溶液試料を大量に必要とし、塩濃度、pHの微妙な調整が困難であること、さらに操作に熟練を要し、再現性が低いといった欠点を有する。透析法は、バッチ法の欠点を改善した方法で、たとえば図46に示すように、透析チューブ571の内部に生体高分子を含む溶液572を密封し、透析チューブ外液573（たとえば緩衝溶液）のpH等を連続的に変化させ結晶化を行なう方法である。この方法によれば、内外液の塩濃度、pH差を任意の速度で調節可能であるため、結晶化の条件を見出しやすい。拡散法のうち、たとえば気液相間拡散法は、図47に示すように、カバーガラス等の試料台581上に、試料溶液の液滴582を載せ、密閉した容器583内にこの液滴と沈殿剤溶液584を入れることにより、両者間の揮発成分の蒸発によって緩やかに平衡を成立させる手法である。また、拡散法のうち液相間拡散法は、図48に示すように、基板590上に、目的とする物質を含有する母液の液滴592と沈殿剤の液滴591とを約5mmほど隔てて置き、両者の間に針等の先によって細い液の流れ593を形成する。この液の流れ593を介して相互拡散が行なわれ、結晶化が促進される。この拡散法は、バッチ法等と比較して溶液の量が非常に少なくて済むといった利点を有している。

25 しかし、蛋白質等の生体高分子の結晶化には、前述したように種々の問題点があるのが実状である。

まず、結晶性の良好なものや、大型の単結晶を得ることが困難であった。これは、生体高分子が一般的に分子量が大きいために、重力の影響を受けやすく、溶液内で対流を引起こすことが原因であると考えられている（たとえば F.

Rosenberger, J. Cryst. Growth, 76, 618 (1986))。すなわち、生体高分子や生成した微小な結晶核が自重で沈降し、これによって分子や核周辺での溶液の対流が引起こされる。さらには、生成した結晶表面部でも、分子の濃度が低下するために局所的な溶液の対流が発生する。以上のようにして発生した溶液内の対流によって、生成する結晶は溶液内で移動し、しかも、周辺の拡散による分子の供給層は著しく減少する。このため、結晶成長速度が低下したり、結晶面における成長の異方性等が発生し、結晶化が妨げられるものと思われる。

また、生体高分子結晶には、他の物質の結晶とは異なり、多量の溶媒（主として水）が含まれる（ ≥ 50 体積%）。この溶媒が、無秩序であり、かつ結晶中で分子間の空隙となっている部分を容易に動き得る。また、分子が巨大であるにもかかわらず、結晶中で広範囲な分子間のパッキングコンタクトがほとんどなく、わずかの分子-分子間コンタクト（ファンデルワールス力による結合）または水を介した水素結合によるコンタクトしか存在していない。このような状態も結晶化を妨げている要因である。

さらに、生体高分子は結晶化に用いられる条件に非常に敏感である。生体高分子は、個々の分子表面間の相互作用により溶媒中で安定化されている一方、分子表面の電荷分布、特にアミノ酸の分子表面近傍でのコンフォメーション等は、環境、すなわち溶液の pH、イオン強度、温度、緩衝溶液の種類、誘電率等により大きく変化する。したがって、結晶化プロセスは、複雑な種々の条件の絡み合ったマルチパラメータプロセスとなり、どの物質に対しても適用できる統一的な手法が確立できてない。また蛋白質については、水溶性蛋白質に比べ、生化学的に非常に重要であるにもかかわらず、疎水性の膜蛋白質の結晶化が、現在非常に困難であり、結晶化を行ないさらに高分解能の解析に成功した例はほとんどない。

また、得られる生体高分子は微量であることが多い。たとえば酵素等の蛋白質は、一般に細胞等から抽出され、精製されるが、その含有量が少ないため、最終的に結晶化のため得られる試料は非常に少ない場合が多い。結晶化を行なう際には、溶液における生体高分子の濃度は 50 mg/ml 程度必要であると言われていいる。したがって、できるだけ少ない量の溶液について種々の条件で結晶化実験を繰返すこと（スクリーニング）を行なう必要がある。

上述したように拡散法では、試料の量が少なくてすむが、良質の結晶を得るためには沈澱剤の塩濃度、pHなどを広い範囲にわたって変えて結晶化の最適条件を見出していかなければならない。この場合、条件はトライ・アンド・エラーによってしか見出すことができない。さらに、試料の液滴を形成するガラス基板は、
5 不要な結晶核の大量発生を起こしやすい。これを抑制するため、表面研磨および撥水処理等の表面処理を予め施す必要がある。

以上のように、蛋白質を初めとする生体高分子およびこれらの複合体の結晶化は、学術および産業上の重要なプロセスであるにもかかわらず、これまで試行錯誤を繰り返しながら進められてきたため、X線結晶構造解析の最大のネックとなっ
10 ている。したがって、今後結晶化の基本原則を理解して、どの分子に対しても適用し得る結晶化技術を開発する必要がある。

発明の開示

本発明の目的は、上述したように多様な特性を有するためにどの物質に対しても適用できる手法がなく、試行錯誤を繰り返しながら進められてきた従来の結晶化
15 プロセスの欠点を、技術的に解消することである。

具体的には、本発明は、種々の生体高分子および生体高分子から主として構成される生体組織の結晶化において、重力の影響による溶液内対流の影響を低減し、核形成を制御することを目的とする。

さらに本発明は、微結晶の大量生成を抑制または制御し、X線構造解析を可能にし得る大型の結晶を得るための技術を提供することを目的とする。
20

さらに本発明の目的は、少量の溶液で結晶化を可能にするための方法および装置を提供することにある。

本発明に従って、溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させるための装置が提供される。この装置は、高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御された基板を備え、そこ
25 において、基板は、結晶成長のために必要な溶液を保持するための複数の溶液貯留部と、複数の溶液貯留部の間に設けられた流路とを有する。複数の溶液貯留部の少なくとも1つにおいて、高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の

正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御されている。本発明に従う装置において、溶液は流路を介して移動できる。溶液の移動下において、価電子が制御されているいずれかの貯留部で結晶化のためのより適切な条件を作ることができる。そのような貯留部において、結晶を成長させることができる。

- 5 さらに、本発明に従って、そのような装置を用いて結晶を成長させる方法が提供される。

本発明に従う1つの局面において、装置は、高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御された基板からなる。該基板の表面は、2種類以上の溶液をそれぞれ保持するための複数の第1溶液貯留部と、結晶を成長させるため高分子化合物を含む溶液を滞留させる複数の第2溶液貯留部と、複数の第1溶液貯留部と複数の第2溶液貯留部とを連結し、溶液の流通を可能にする複数の流路とを有する。該基板の少なくとも第2溶液貯留部において、高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御されている。

- 10 本発明の装置は第1溶液貯留部の溶液を加熱するための手段をさらに有することができる。

また、本発明の装置は、少なくとも第2溶液貯留部に電圧を印加するための電極をさらに有することができる。

- 20 基板に形成された複数の流路において、それらの幅および／または深さは異なっていることが好ましい。

基板の表面において、第2溶液貯留部の特定領域で高分子化合物の結晶核の形成および結晶の成長が促進され、かつその他の領域で結晶核の形成が抑制されるよう、価電子が制御されていることが好ましい。このように価電子を制御することによって、第2溶液貯留部の特定の領域において選択的に結晶を成長させることができる。

25 本発明の装置は、たとえば不純物が添加された半導体基板からなることが好ましい。半導体基板における価電子制御は、不純物の濃度および／または種類の制御により行なうことができる。

好ましい半導体基板として、シリコン結晶基板を用いることができる。

半導体基板からなる装置において、第2溶液貯留部には溝または孔を形成することができる。この場合、溝または孔の内と外とで不純物の濃度および／または種類を異ならしめることができる。

5 本発明の装置において、溶液と接触すべき表面に酸化物からなる被膜を設けることができる。このような被膜は、表面に親水性を付与する。

本発明は、結晶成長用装置を提供し、この装置は、上述した結晶成長用装置と、沈殿剤または緩衝溶液とともに装置を密封状態で収容できる容器と、容器内において装置を支持するための手段とを備える。

10 本発明は、溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させる方法を提供する。この方法は、上述した結晶成長用装置を与える工程と、装置に設けられた複数の第1溶液貯留部に高分子化合物を含む第1の溶液およびそれと異なる第2の溶液をそれぞれ保持させる工程と、前記第1の溶液および第2の溶液を複数の流路を介して装置に設けられた複数の第2溶液貯留部に移行させ、複数の第2溶液貯留部において第1の溶液と第2の溶液とが異なる比率で混合された複数種の混合液をそれぞれ貯留させる工程と、混合液をそれぞれ貯留する複数の第2溶液貯留部において、制御された価電子により装置の表面にもたらされる電気的状態の下、
15 高分子化合物の結晶を成長させる工程とを備える。

本発明の方法は、第1溶液貯留部の溶液を加熱する工程をさらに備えることができ、これにより、第1溶液貯留部からの流路を介する溶液の移行を促進させる
20 ことができる。

本発明の方法は、少なくとも第2溶液貯留部に電圧を印加する工程をさらに備えることができ、これにより、装置の表面にもたらされる電気的状態を制御することができる。

25 本発明の方法において、第2溶液貯留部に微細加工により溝または孔が形成された装置を用いる場合、溝または孔において高分子化合物の結晶化を促進することができる。

本発明の方法において、第2の溶液として、第1の溶液のpHおよび／または塩濃度を変化させるための緩衝溶液および／または塩溶液を用いることができる。

本発明によるもう1つの局面において、結晶成長用装置は、高分子化合物を含

む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御された基板を備え、そこにおいてこの基板の表面は、2種類以上の溶液をそれぞれ保持するための複数の第1溶液貯留部と、複数の第1溶液貯留部からそれぞれ溶液を排出させて1方向に流すための複数の第1流路と、複数の第1流路によりそれぞれ送られる2種類以上の溶液を同時に受入れる第2溶液貯留部と、第2溶液貯留部から溶液を排出させて1方向に流すための第2流路と、第2流路により送られる溶液を受入れる第3溶液貯留部とを備える。基板の少なくとも第2溶液貯留部において、高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御されている。

第1流路および／または第2流路は、基板上に形成された溝とすることができる。この溝は溶液を1方向に流すために階段形状であるかまたは勾配を有するものとすることができる。また第1流路および／または第2流路は、基板上に形成された幅および深さの異なる複数の溝から構成することができる。溝の幅は、上流から下流にいくに従って広げることができ、溝の深さは上流から下流にいくに従って深くなっていることが好ましい。

基板の表面において、第2溶液貯留部の特定領域で高分子化合物の結晶核の形成および結晶の成長が促進され、かつその他の領域で結晶核の形成が抑制されるよう、価電子が制御されていることが好ましい。このように価電子を制御することによって、第2溶液貯留部の特定の領域において選択的に結晶を成長させることができる。

また本発明の装置において基板の第2溶液貯留部に溝または孔を形成することが好ましい。溝または孔は、結晶成長が溶液の対流によって阻害されることを効果的に抑制することができる。

本発明の装置は、基板を加熱するための手段をさらに備えることができる。このような手段は、たとえば基板の表面に形成された電極とすることができる。

本発明の装置において第2溶液貯留部を複数設けることができる。これらの第2溶液貯留部には同種類の溶液を運ぶ複数の第1流路が接続される。これらの第1流路のうち、第2溶液貯留部の1つに向かう流路は、第2溶液貯留部の他の1つに向かう流路と異なる長さおよび／または幅を有することができる。さらに必

要に応じて、その深さを変えてもよい。それにより、第1流路のそれぞれによって送られる溶液の流速は異なってくる。第2溶液貯留部の1つは他の1つと異なる流量で溶液を受入れる。このため、複数の第2溶液貯留部において、2種類以上の溶液が異なる比率で混合された液を調製することができる。

- 5 また、本発明の装置は、少なくとも第2溶液貯留部に電圧を印加するための電極をさらに有することができる。

本発明の装置は、たとえば不純物が添加された半導体基板からなることが好ましい。半導体基板における価電子制御は、不純物の濃度および／または種類の制御により行なうことができる。好ましい半導体基板としてシリコン結晶基板を用いることができる。

- 10 第1、第2および第3溶液貯留部を有する装置を用いて高分子化合物の結晶を成長させる方法では、まず、複数の第1溶液貯留部に高分子化合物を含む第1の溶液およびそれと異なる第2の溶液をそれぞれ保持させることができる。第1の溶液および第2の溶液を複数の第1流路を介して第2溶液貯留部に移行させ、そこにおいて第1の溶液と第2の溶液とを混合できる。得られた混合液を第2の流路を介して第2溶液貯留部から第3溶液貯留部へ導きながら、混合液を貯留する。第2溶液貯留部において、制御された価電子により装置の表面にもたらされる電気的状態の下、高分子化合物の結晶を成長させることができる。この結晶成長方法において、装置は、複数の第2溶液貯留部およびサイズの異なる複数の第1流路を有することができる。複数の第2溶液貯留部において、第1の溶液と第2の溶液とが異なる比率で混合された複数の混合液をそれぞれ貯留させることができる。この方法において、基板を加熱してもよい。この方法において、第2溶液貯留部に電圧を印加してもよく、それにより、装置の表面にもたらされる電気的状態を制御することができる。この方法において、第2溶液貯留部に溝または孔が形成された装置を用いることができ、溝または孔により対流を抑制しかつ／または高分子化合物の結晶成長を促進させることができる。この方法において、第2の溶液は、第1の溶液のpHおよび／または塩濃度を変化させるための緩衝溶液および／または塩溶液とすることができる。

本発明によるさらなる局面において、結晶成長用装置は、対向する1対の主表

面を有し、かつ高分子化合物を含む溶液の環境に応じて主表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御された基板を備え、そこにおいてこの基板は、1対の主表面の一方に設けられた、結晶成長のために用いられる溶液を保持するための第1溶液貯留部と、1対の主表面の一方に設けられた、第1溶液貯留部から溶液を排出させて所定の方に流すための流路と、1対の主表面の一方に設けられた、該流路より送られる溶液を受入れるための第2溶液貯留部と、第2溶液貯留部にある溶液を1対の主表面の他方に導くための貫通孔と、貫通孔を介して送られる溶液を1対の主表面の他方において受入れるための第3溶液貯留部とを備える。この基板の少なくとも第2溶液貯留部および／または第3溶液貯留部において、高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御されている。

流路は、幅および／または深さの異なる複数の溝から構成することができる。これらの溝は、基板自体に形成してもよいし、基板上に設けられた膜を加工することにより形成してもよい。流路を構成する溝の幅は、上流から下流にいくに従って広げることができる。また、流路を構成する溝は、上流から下流にいくに従って深くすることができる。このような構成により、流路において溶液を一方向に流すことが可能である。また、流路を構成する溝は、溶液を一方向に流すために階段形状であるかまたは勾配を有するものとすることができる。

基板には、複数の第2溶液貯留部と第3溶液貯留部を設けることができる。この場合、1つの第2溶液貯留部から溶液を送る貫通孔の径は、他の第2溶液貯留部から溶液を送る貫通孔の径と異なってもよい。貯留部ごとに貫通孔の径を変えることで、結晶成長に対して異なる条件および環境を提供できる。

本発明の装置は、基板を加熱するための手段をさらに備えることができる。このような手段は、たとえば基板の表面に形成された電極とすることができる。

本発明の装置において、基板の第2溶液貯留部に溝または孔を形成することが好ましい。溝または孔は、結晶成長が溶液の対流によって阻害されることを効果的に抑制することができる。

基板の表面において、第2溶液貯留部および／または第3溶液貯留部の特定領域で高分子化合物の結晶核の形成および結晶の成長が促進され、かつその他の領

域で結晶核の形成が抑制されるよう、価電子が制御されていることが好ましい。このように価電子を制御することによって、第2溶液貯留部および／または第3溶液貯留部の特定の領域において選択的に結晶を成長させることができる。

5 本発明の装置は、たとえば不純物が添加された半導体基板からなることが好ましい。半導体基板における価電子制御は、不純物の濃度および／または種類の制御により行なうことができる。好ましい半導体基板としてシリコン結晶基板を用いることができる。

貫通孔を有する装置を用いた結晶成長方法では、第1溶液貯留部に高分子化合物を含む溶液を保持させることができる。第1溶液貯留部から第2溶液貯留部に
10 流路を介して溶液を送ることができる。第2溶液貯留部と第3溶液貯留部との間で、溶液を貫通孔を介して流通させることができる。第2溶液貯留部および／または第3溶液貯留部において、制御された価電子により装置の表面にもたらされる電気的状態の下、高分子化合物の結晶を成長させることができる。この方法において、装置は、複数の第1溶液貯留部、複数の第2溶液貯留部および長さおよ
15 び／または幅の異なる複数の流路を有することができる。複数の第1溶液貯留部に高分子化合物を含む第1の溶液およびそれと異なる第2の溶液をそれぞれ保持させることができる。第1の溶液および第2の溶液を複数の流路を介して複数の第2溶液貯留部に移行させ、それらにおいて、第1の溶液と第2の溶液とが異なる比率で混合された複数の混合液をそれぞれ貯留させることができる。この方
20 法において、基板を加熱してもよい。またこの方法において、第2溶液貯留部に電圧を印加し、それにより装置の表面にもたらされる電気的状態を制御することができる。この方法は、第2溶液貯留部に溝または孔が形成された装置を用いてもよい。溝または孔により、対流を抑制し、かつ／または結晶の成長を促進させることができる。この方法において第1の溶液と第2の溶液を用いる場合、第2
25 の溶液は、第1の溶液のpHおよび／または塩濃度を変化させるための緩衝溶液および／または塩溶液とすることができる。

図面の簡単な説明

図1Aおよび図1Bは、本発明に従って、装置の表面に結晶核が固定化され、

結晶成長が進んでいく様子を示す模式図である。

図 2 は、本発明の結晶成長用装置の一具体例を示す模式図である。

図 3 は、図 2 に示す装置の X-X 断面図である。

図 4 は、図 2 に示す装置の Y-Y 断面図である。

5 図 5 A～図 5 E は、本発明の結晶成長用装置において第 1 溶液貯留部の具体例を示す概略断面図である。

図 6 A～図 6 E は、本発明の結晶成長用装置において流路の具体例を示す概略断面図である。

10 図 7 A～図 7 F は、本発明の結晶成長用装置において第 2 溶液貯留部の具体例を示す概略断面図である。

図 8 は、結晶成長用装置にバイアス電荷を印加した場合に発生する表面電位を示す模式図である。

図 9 は、本発明の結晶成長用装置において、基板の裏面に設けられる電極の配置の具体例を示す平面図である。

15 図 10 A～図 10 C は、結晶成長用装置に形成される溝の作用効果を説明するための概略断面図である。

図 11 は、本発明の結晶成長用装置の一具体例を示す概略断面図である。

図 12 は、本発明の結晶成長用装置のもう 1 つの具体例を示す模式図である。

図 13 は、本発明の装置における流路の他の具体例を示す平面図である。

20 図 14 は、図 13 に示す流路の I-I' 断面図である。

図 15 A～図 15 C は、図 13 に示す流路の X-X'、Y-Y' および Z-Z' 断面図である。

図 16 は、本発明の結晶成長用装置において溶液保持部および流路の配置を示す概略断面図である。

25 図 17 は、本発明の結晶成長用装置の他の具体例を示す模式図である。

図 18 A～図 18 D は、本発明の結晶成長用装置の流路を形成するためのプロセスを示す概略断面図である。

図 19 は、本発明の結晶成長用装置における第 2 溶液貯留部のもう 1 つの具体例を示す平面図である。

図 20 は、図 19 に示す溶液貯留部の概略断面図である。

図 21 は、図 19 に示す溶液貯留部の表面電位を示す模式図である。

図 22 は、結晶化のための溶液貯留部の他の具体例を示す模式図である。

5 図 23 A～図 23 C は、結晶化のための溶液貯留部に溶液が保持されていく様子を説明するための概略断面図である。

図 24 は、本発明の結晶成長用装置の他の具体例を示す模式図である。

図 25 は、貫通孔を有する本発明の装置の一具体例を示す断面図である。

図 26 A～図 26 D は、貫通孔を有する本発明の装置における第 2 溶液貯留部および第 3 溶液貯留部の具体例を示す断面図である。

10 図 27 は、貫通孔を有する本発明の装置を用いて結晶を成長させる様子を示す模式図である。

図 28 A～図 28 C は、貫通孔を有する本発明の装置において基板の両面に形成される 2 つの溶液貯留部間でどのように溶液の流れが生じるかを示す模式図である。

15 図 29 A および図 29 B は、溶液貯留部における溶液濃度の変化を示す図である。

図 30 は、本発明の装置に形成される流路の他の具体例を示す模式図である。

図 31 A および図 31 B は、流路を構成する溝の具体例を示す概略断面図である。

20 図 32 は、貫通孔を有する本発明の装置における第 2 溶液貯留部の他の具体例を示す平面図である。

図 33 は、図 32 に示す溶液貯留部の概略断面図である。

図 34 は、図 32 に示す溶液貯留部の表面電位を示す模式図である。

図 35 は、結晶化のための溶液貯留部のさらなる具体例を示す模式図である。

25 図 36 A～図 36 C は、結晶化のための溶液貯留部に溶液が保持されていく様子を説明するための概略断面図である。

図 37、38 および 39 は、例 1 において生成した結晶構造の顕微鏡写真である。

図 40、41 および 42 は、それぞれ図 37、38 および 39 に示す結晶構造

を模式的に示す斜視図である。

図 4 3 は、例 2 で用いられた結晶成長装置の構成を示す模式図である。

図 4 4 および 4 5 は、例 2 において生成した結晶構造の顕微鏡写真である。

図 4 6 は、従来の方法に用いられる装置の一例を示す模式図である。

5 図 4 7 は、従来の方法に用いられる装置のもう 1 つの例を示す模式図である。

図 4 8 は、従来の方法に用いられる装置の他の例を示す模式図である。

発明を実施するための最良の形態

10 蛋白質を初めとする生体高分子のほとんどは、溶液内において幾何学的に特異的な構造および静電的な相互作用（静電斥力・引力、ファンデルワールス力）によって分子間同士の認識が行なわれている。静電的なエネルギーに基づく分子間の相互作用においては、個々の分子最表面でのわずかな空間的な電荷分布の相違が、分子間の認識度合い、分子集合体の作りやすさに決定的な影響を及ぼすことが予想される。したがって、溶液内をブラウン運動しながら衝突を繰返している個々の分子では、周期的かつ規則的な構造を有する分子集合体の核が非常に形成されにくいと考えられる。さらに、結晶核が形成されたとしても、各分子表面の分子構造、電荷分布が全く同一ではなく冗長性を有しておれば、核の周囲に集合する各分子は互いに緩く結合することになり、よって結晶性が低下するものと考えられる。

20 蛋白質分子の結晶生成に関しては、その核生成の初期過程が重要であるとの報告がなされている。Yonath 等は、*Bacillus Stearothermophilus* より抽出された巨大なリボソームサブユニットの結晶化初期過程を電子顕微鏡により観察している。それによれば、結晶化が進行するためには、初期過程として、各分子が 2 次元的な規則構造（編み目状、星状、千鳥格子状等）をとって凝集することが必須であると述べている (Biochemistry International, Vol. 5, 629-636 (1982))。

25 これがすべての物質に共通して必須であるかどうかは不明である。しかし、一般に蛋白質分子は分子間相互作用が弱く、しかも分子表面が局部的に帯電しているため、凝集しにくいことを考慮すると、結晶化の初期過程において核となる分子を 2 次元的に配列させる何らかの条件を整えば、その後の結晶化は、これを核

としてエピタキシャル的に進行するものと考えられる。

本発明では、結晶核を安定して生成させるため、価電子が制御された基板を結晶化すべき物質を含む液に接触させる。該基板は、液と接触する表面から内部に向かって、あるいは該基板の断面内において、価電子制御により電子および正孔の濃度を制御することができ、それによって基板表面の電気的狀態を制御することができる。たとえば図 1 A, 図 1 B に、本発明に従い、基板表面において結晶核が固定され、結晶が成長していく様子を模式的に示す。図 1 A に示すように、価電子制御により、所定の電気的狀態とされる基板 1 の表面に、結晶核 2 が静電的な作用によって固定される。そして、図 1 B に示すように、蛋白質等の化合物は、静電的な相互作用により、基板表面に凝集し、結晶核の生成が促進され、結晶の成長がもたらされる。したがって、基板表面の電気的特性を制御することにより、結晶化の制御が可能となる。たとえば、基板表面に固定される結晶核の種類、量、配列密度等を価電子制御により調整することができ、それによって結晶化の制御が可能となる。また、生成された結晶核が基板表面に固定されるため、溶液内の対流等による核の微小な変動が抑制され、核の形成に従って規則的に分子が集合し、結晶性が向上することも期待される。結晶化すべき分子の表面の電荷分布が溶液の pH や分子の変性によって微妙に変化しても、基板表面には必ず該分子の実効表面電荷と補償する空間電荷が誘起されるため、結晶核の 2 次元的な生成が容易にかつ優先的に行なわれることが期待される。

本発明の好ましい 1 つの態様に従って装置を構成する基板の表面に、母液、沈澱剤、緩衝溶液等をそれぞれ保持するための複数の第 1 溶液貯留部と、複数の第 1 溶液貯留部からの液を受入れ結晶を成長させるための複数の第 2 溶液貯留部とが形成され得る。第 1 溶液貯留部と第 2 溶液貯留部との間の液の流通は基板の表面に設けられた流路によって行なわれる。流路は、第 1 溶液貯留部と第 2 溶液貯留部との間に設けられるが、複数の第 2 溶液貯留部の間にさらに設けることができる。流路によって液を流通させることで、複数の第 1 溶液貯留部から異なる種類の溶液を第 2 溶液貯留部に供給し、混合液を得ることができる。複数の第 2 溶液貯留部でそれぞれ得られる混合液は、第 2 溶液貯留部のそれぞれの位置および流路の配置またはそのサイズおよび形状に応じて、異なる組成を有することがで

きる。すなわち、複数の第2溶液貯留部において、異なる比率で複数種の溶液を混合することができる。溶液貯留部を流路で繋いだ系において、複数の溶液の相互拡散を空間的および時間的に連続的に変化させることができ、結晶化を行なうべき複数の第2溶液貯留部においてそれぞれ異なる結晶化の条件を再現性よくも

5 たらすことができる。多くの第2溶液貯留部を基板上に設ければ、微妙に異なる条件を調製することができる。このようにして、1つの基板上で異なる複数種の結晶化条件を得ることができ、それらのいずれかが必要な化合物の結晶化のため最適であることが期待できる。

基板上に形成された複数の流路において、それらの幅および／または深さが異

10 なっていることが好ましい。流路のサイズを変えることにより、溶液の供給量を変えることができる。結晶化を行なうべき第2溶液貯留部に供給される溶液の流量を変えることによって、複数種の溶液の混合比を制御することができる。複数の流路ごとに流量を調節すれば、より多様な混合比を得ることができ、したがって結晶化のためより多くの条件を調製することができる。

15 また本発明において、第1溶液貯留部に貯留される溶液を加熱するための手段を装置に形成することができる。このような手段は、たとえば装置を構成する基板に形成される加熱電極とすることができる。加熱された各溶液は、その体積の膨張を推進力として流路に押出される。また加熱された溶液は粘性が低下するため流れやすくなる。したがって、加熱により溶液の移行は促進される。溶液の移

20 行を促進させる他の方法として、流路で結ばれる溶液貯留部の間に高低差を付けることもできる。また、流路として微細な幅の溝を形成してもよい。溝の間隔が狭い場合、表面張力によって液体を移動させることができる。

また加熱手段によって基板を部分的に加熱すれば、基板内に温度勾配を設けることができる。温度勾配に従って、複数の第2溶液貯留部に温度差が生じる。温

25 度の異なる溶液において、結晶化すべき物質の溶解度も異なる。したがって、温度差により1つの基板においてより多くの結晶化のための条件を得ることができる。

さらに本発明では、基板に電圧を印加することができる。電圧は、たとえば溶液貯留部が形成された面と反対の基板面に形成される電極を介して印加すること

ができる。このような電極は、少なくとも第2溶液貯留部に電圧を印加できるよう設けることが好ましい。電極を介してバイアス電圧を印加することにより、後で詳しく説明するように基板表面に働く静電的な効果を増大させたり減少させたりすることができる。特に第2溶液貯留部において基板の表面電位を増加させることにより、結晶成長の促進を図ることができる。電圧の印加により、結晶化すべき分子の基板表面に対する選択的な反応および凝集作用を向上させることができる。

また、第2溶液貯留部に微細加工によって溝または孔を形成することにより、基板に働く静電引力の対流抑制に対する効果を向上させることができる。特に基板に形成された溝の底部では、結晶化すべき分子に対して静電的相互作用をほぼ等方的に及ぼすことができる。溝の底部で結晶核が形成される場合、静電的相互作用により結晶核を溝の底部に静止させ、重力の影響に基づく対流から結晶核を保護することが可能になる。ほぼ静止した核に基づいて結晶が成長していけば、過剰な微結晶の生成は抑制され、結晶核の表面に規則的に分子が集合した大型の結晶を得ることができると期待される。

また、一般に電解質溶液内における帯電物質または分子の凝集性は、それらの間の電気二重層斥力とファンデルワールス力との和に依存するため、物質または分子同士を凝集させる場合、電解質溶液中に添加する表面電位を調整するための塩濃度をコントロールすることが非常に重要となる。しかし本発明によれば、装置を構成する基板表面の静電特性は予め価電子制御により調整できるため、塩濃度の調整が容易または不要になるというメリットも生じる。

このような目的に供される装置としては、上述したような静電特性を有し、電荷量および極性の制御が可能な物質で、さらに溶液中で化学的に安定な物質であれば、どのようなものでもよい。この目的を達成するために最適な材料の1つとしてシリコン結晶を挙げることができる。以下、シリコン結晶を用いた場合について予想される結晶化のメカニズムを以下に説明する。しかしながら、以下に記載されるメカニズムは、本発明に従って用いられる他の基板にも当てはめることができる。

図2、3および4は、本発明の結晶成長用装置の一具体例を示している。図に

示す構造物はシリコン基板を加工することによって得られる。図2は、シリコン基板の表面に形成される構造を模式的に示している。図3および図4は、図2に示す素子のX-X、Y-Y断面図である。

図2に示すように、シリコン基板の表面には複数の溶液貯留部12a、12b、
5 12c、12d、14が形成されている。溶液貯留部12a～12dは、本発明に従う第1溶液貯留部に相当し、高分子化合物を含む溶液およびそれ以外の必要な溶液をそれぞれ保持する。多数の溶液貯留部14は、本発明の第2溶液貯留部に相当するもので、溶液貯留部12a～12dから供給される複数種の溶液を受入れ混合液を調製するためのものである。溶液貯留部14において、高分子化合物
10 物を含む溶液とその他の溶液とが出会い、結晶化のための条件が調製される。そして、多数の溶液貯留部14のいずれかにおいて、最適な結晶化条件が作り出され、結晶化が促進される。溶液貯留部12aと溶液貯留部14とは流路16aにより連結されている。同様に、貯留部12b、12cおよび12dは、流路16b、16c、16d₁、16d₂および16d₃により対応する貯留部14と連結
15 されている。また、多数の溶液貯留部14間にも流路26が設けられている。流路26は、隣り合う貯留部14同士を連結する。

溶液貯留部12a、12bおよび12cの周辺部には加熱用電極18が形成されている。電極18は、パッド21に接続される。溶液貯留部12dの周辺部にも加熱用電極28が設けられており、電極28はパッド31に接続されている。
20 電極18および28にパッド21および31を介してそれぞれ通電することにより貯留部12a～12dに保持される溶液は加熱される。上述したように加熱によって溶液の移行が促進されるが、これらの加熱手段はなくてもよい。

図3は、装置を形成する基板の断面を示している。シリコン基板10上には、サイズの異なるV溝が形成されており、それらの部分がそれぞれ溶液貯留部12b、14および12dとなっている。図示しないが、図2に示す溶液貯留部12aおよび12cの部分にもV溝が形成されている。基板10上において、V溝が形成された部分の周囲にはたとえば撥水性樹脂からなる撥水層17が形成されている。この層は、基板において溶液が広がるのをくい止め、それぞれの溶液貯留部において所定の溶液が確実に保持されるようにする。V溝および撥水層17に

より形成される空間に、それぞれの溶液 15 b、15 d、25 a、25 b、25 c、25 d が保持される。シリコン基板 10 の裏面には、電極 19 が設けられている。シリコン基板において、溶液貯留部 12 b および 12 d が形成される部分と溶液貯留部 14 が形成される部分とでその厚みが異なっている。このような構造において、電極 19 に電圧を印加すれば、基板表面にもたらされる電气的状態（表面電位）は貯留部 12 b および 12 d と貯留部 14 とで異なってくる。裏面電極と基板表面との間の距離を狭くすれば、電圧を印加したときに基板表面にもたらされる電解強度を高めることができる。したがって、結晶化を行なうべき溶液貯留部 14 において、選択的に高いバイアス電圧を印加することができ、この部分において表面電位を増大させ、結晶成長を促進させることができる。

図 4 は、シリコン基板上に流路が形成されている構造を示している。シリコン基板 10 上には、V 溝を有する流路 16 a、16 b、16 c が形成される。流路 16 a ~ 16 c の周囲にも撥水層 17 が設けられている。V 溝と撥水層 17 とで構成される空間に溶液 25 が保持される。

図 2、3 および 4 に示す装置において、たとえば、貯留部 12 a および 12 c にそれぞれ pH が調節された緩衝溶液、貯留部 12 b に所定の塩の水溶液、貯留部 12 d に結晶化すべき分子（たとえば蛋白質）を含有する水溶液（母液）をそれぞれ液滴となるように保持させることができる。また、必要に応じて貯留部 14 の所々に緩衝溶液や塩の水溶液を保持させておいてもよい。次いで、基板全体または溶液貯留部を通电により加熱する。加熱により、各貯留部からの溶液の移行が促進される。図に示すように、各流路は貯留部 14 同士を複雑に連結しており、したがって、次第に母液、緩衝溶液および塩溶液がそれぞれの貯留部において種々の濃度比で混合されていく。このとき、流路を介して溶液の流入および流出が繰返され、僅かずつ混合比が時間的および空間的に変化する。すなわち、多くの貯留部 14 において、結晶化すべき分子、緩衝溶液および塩の濃度が僅かずつ異なった種々の混合液が調製される。これらの混合液のいずれかにおいて結晶化に最適な混合比がもたらされ、そこにおいて結晶化が促進される。また、後述するように、結晶を成長させるべき溶液貯留部に溝を形成すれば、結晶核の形成の制御および結晶成長の促進を図ることもできる。

図 2～図 4 に示す装置では、V 溝を有する溶液貯留部および流路が用いられているが、それらの形状は種々のものとすることができる。図 5 A～図 5 E、図 6 A～図 6 E および図 7 A～図 7 F に、第 1 溶液貯留部、流路および第 2 溶液貯留部の具体例をさらに示す。

5 本発明の装置を構成する基板表面に形成される第 1 溶液貯留部は、たとえば図 5 A～図 5 E に示すような形状とすることができる。図 5 A～図 5 D に示すように、必要かつ十分な量の液滴を保持するため、第 1 溶液貯留部には溝が形成されていることが好ましい。図 5 A に示す貯留部において、シリコン基板 3 0 には U 字型の溝 3 2 a が形成されている。溝 3 2 a はたとえば撥水性の樹脂からなる撥水層 3 7 により囲まれる。溝 3 2 a および撥水層 3 7 により溶液 3 5 を保持する貯留部 3 2 が形成される。図 5 B に示す貯留部では、シリコン基板 3 0 上にシリコン酸化膜 3 3 が形成されている。この酸化膜は、シリコン基板に親水性を付与する。その他の構造は、図 5 A と同様である。図 5 C に示す貯留部では、シリコン基板 4 0 上に V 溝 4 2 a が形成されている。溝 4 2 a の周囲にはたとえば撥水性樹脂からなる撥水層 4 7 が形成される。溝 4 2 a と撥水層 4 7 とで構成される貯留部 4 2 に溶液 4 5 が保持される。図 5 D に示す貯留部では、シリコン基板 4 0 上にシリコン酸化膜 4 3 が形成される。その他の構造は図 5 C に示すものと同様である。これらの構造物において、U 字溝および V 溝はシリコン基板をエッチングすることにより形成できる。また撥水層は、たとえばシリコン基板上に撥水樹脂をコーティングし、フォトリソグラフィ等を用いてパターニングを行なうことにより形成することができる。また、図 5 E に示すように、溝を形成せずに溶液貯留部を構成することもできる。この場合、シリコン基板 4 0' 上に所定のパターンで撥水層 4 7' を形成し、シリコン基板 4 0' の表面が露出した部分を溶液貯留部とすることができる。水溶性の溶液を用いる場合、溝が形成されるシリコン表面に酸化膜を形成することで、その部分の親水性を高め、溶液の流れをよくすることができる。

図 6 A～図 6 E は流路の具体例を示している。図 6 A に示すように、シリコン基板 5 0 上に U 字型の溝 5 6 a を形成し、その周りに撥水性樹脂からなる撥水層 5 7 を形成することができる。溝 5 6 a および撥水層 5 7 により流路 5 6 が構成

され、そこに溶液 55 が通される。図 6 B に示す構造は、シリコン基板 50 上にシリコン酸化膜 53 が形成されることを除いては図 6 A の構造と同様である。図 6 C に示される流路 66 は、シリコン基板 60 上に形成される V 溝 66 a を有している。溝 66 a とその周りを囲む撥水層 67 とで構成される流路 66 に溶液 65 が通される。図 6 D に示される構造は、シリコン基板 60 上にシリコン酸化膜 63 が形成されるのを除いては、図 6 C の構造と同様である。このような溝を有する構造において、U 溝や V 溝は、シリコン基板をエッチングすることにより形成することができる。撥水層は、たとえば撥水性樹脂をシリコン基板にコーティングし、フォトリソグラフィ等を用いてパターニングすることにより得られる。また図 6 E に示すように、溝を形成しない構造はより簡便に得ることができる。この場合、シリコン基板 70 上に、流路を形成すべき部分を除いて撥水層 77 が設けられる。溶液 75 は撥水層 77 によって取囲まれる流路 76 に通される。水溶性の溶液を用いる場合、溝が形成されたシリコン表面にシリコン酸化膜を形成することで、親水性を高め、溶液の流れを良好にすることができる。

図 7 A ～図 7 F は、第 2 溶液貯留部の構造の具体例を示している。図 7 A に示す構造では、シリコン基板 80 上に所定のパターンでたとえば撥水性樹脂からなる撥水層 87 が形成されている。撥水層 87 によって取囲まれかつシリコン基板 80 が露出する部分に溶液 85 を保持するための溶液貯留部 84 が形成される。シリコン基板の表面は、通常、結晶欠陥および固定電荷が極めて少ないため、結晶化すべき分子について余分な結晶核を生成させにくいという長所を有する。したがって、図 7 A に示すような構造でも、結晶化を行なうべき空間を調製することができる。図 7 B に示す構造では、シリコン基板 80 上にシリコン酸化膜 83 が形成されている。その他の部分は図 7 A に示す構造と同様である。結晶化すべき分子（たとえば蛋白質分子）の特性に応じて、シリコン表面に酸化膜を形成すればよい。酸化膜は、シリコン表面の親水性を向上させる。図 7 C に示す構造では、第 1 のシリコン層 80 a 上に第 2 のシリコン層 80 b が形成されている。このような異なるシリコン層は、シリコンに添加する不純物の濃度および／または種類を変えることにより形成することができる。積層構造を有するシリコン上に所定のパターンで撥水層 87 が形成され、撥水層 87 に囲まれる部分に溶液貯留

部 8 4 が形成される。図 7 D に示す構造では、第 1 のシリコン層 9 0 a 上に第 2 のシリコン層 9 0 b が形成され、その積層体に V 溝 9 4 a が形成されている。所定のパターンで形成された撥水層 9 7 と V 溝 9 4 a とによって溶液 9 5 を保持する貯留部 9 4 が構成されている。V 溝 9 4 a の内部では、第 1 のシリコン層 9 0 a が露出している。一方 V 溝 9 4 a の外において、第 1 のシリコン層 9 0 a は第 2 のシリコン層 9 0 b によって覆われている。図 7 E に示す構造では、溶液貯留部 1 0 4 にトレンチ 1 0 4 a が形成されている。トレンチ 1 0 4 a は開口部の幅よりも深さが大きく、アスペクト比の高い形状を有する。図に示すように、トレンチは複数設けることが好ましい。溶液貯留部 1 0 4 は、第 1 のシリコン層 1 0 0 a 上に第 2 のシリコン層 1 0 0 b が形成された基板に設けられている。溶液貯留部 1 0 4 の周囲には撥水層 1 0 7 が形成される。図 7 F に示す構造では、溶液貯留部 1 1 4 に U 字溝 1 1 4 a が形成される。第 1 のシリコン層 1 1 0 a 上には第 2 のシリコン層 1 1 0 b が形成され、溶液貯留部 1 1 4 の周囲には撥水層 1 1 7 が設けられている。

図 7 D ～ 図 7 F に示す構造において、V 溝、トレンチおよび U 溝はたとえばシリコン表面を化学的にエッチングすることによって形成することができる。溶液貯留部に溝を形成することによって、貯留部内での溶液の対流を効果的に抑制し、結晶核の生成および大型の結晶の成長をより安定に行なわせることができる。また、図 7 D ～ 図 7 F に示す構造において、その表面にシリコン酸化膜を形成してもよい。酸化膜は、シリコン表面の親水性を向上させる。図 7 A ～ 図 7 F に示す貯留部において、撥水層は、たとえば撥水性樹脂をコーティングした後、ホトリソグラフィ等を用いてパターンニングを行なうことにより形成することができる。

図 7 A ～ 図 7 F に示す結晶化のための溶液貯留部において、価電子が制御されたシリコンを用いることができる。制御された価電子のため、溶液と接触するシリコン表面には溶液の状態に応じた電気的狀態がもたらされる。価電子の制御のため、特に不純物の濃度および／または種類の異なる複数のシリコン層を溶液貯留部に形成することが好ましい。図 7 C ～ 図 7 F に示す構造は、価電子制御の狀態が異なる複数のシリコン層を形成した例である。これらの構造において、たとえば第 1 のシリコン層として p 型シリコン、第 2 のシリコン層として n 型シリコ

ンを用いることができる。この場合、特にp型シリコン層が露出した溝において、負の実効表面電荷を有する分子をより効果的に結晶化することができると考えられる。また第1のシリコン層として不純物濃度が低く高抵抗のn型シリコンを用い、第2のシリコン層として不純物濃度が高く低抵抗のn型シリコンを用いることができる。この場合も、高抵抗のn型シリコンが露出した溝において特に負の実効表面電荷を有する分子を効果的に結晶化することができると考えられる。一方、正の実効表面電荷を有する分子の結晶化に対しては、上述したシリコンの極性を逆にすればよいと考えられる。すなわち、第1のシリコン層としてn型シリコンを用い、第2シリコンとしてp型シリコンを用いればよい。また、p型シリコンについて不純物の濃度の異なる層または領域を形成することが効果的であると考えられる。

以下に、基板における価電子制御により結晶化が制御されるメカニズムを説明する。解離して負の実効表面電荷を有する高分子化合物を含有する電解質水溶液を、価電子制御されたnまたはp型シリコン結晶に接触させると、n型シリコン表面に対してはショットキー障壁が形成される一方、p型シリコン表面に対してはオーミック性接触が得られる。p型シリコン表面では、負の電荷を有する高分子電解質に対して、バルクシリコン側から常に正孔が供給されるため（オーミック特性）、高分子は常にシリコン表面に凝集し続けることが予想される。一方、n型シリコンの表面には、水溶液の電解質濃度に依存した表面電位が発生するとともに、内部に空間電荷層領域が形成される。この空間電荷量は、n型シリコンのドーパント濃度にも依存する。したがって、電解質溶液中において負の電荷を有する高分子は、このn型シリコンの有する正の空間電荷を少なくとも補償するまで、シリコン表面に凝集し続けることが予想される。よって、空間電荷層領域が形成されるシリコン表面に対しては、高分子化合物の凝集および結晶化が制限されて起こるのに比べ、オーミック性接触が形成されるシリコン表面に対しては、高分子化合物の凝集が無制限に進行することが予想される。

また、たとえばn型シリコンにおいて、不純物濃度が異なる2つ以上の領域が形成されている場合も、それらの領域によって異なる態様で結晶化が進むことが予想される。n型シリコンの不純物濃度が低く高抵抗の場合と、不純物濃度が高

く低抵抗の場合について、その効果の相違について述べる。n型シリコンの場合、低不純物濃度（あるいは高抵抗）基板では、ドーパント濃度が低いため表面近傍に形成される空間電荷層の幅が広くなることにより、空乏層容量が小さく、したがってシリコン表面に誘起される表面電位は高不純物濃度（あるいは低抵抗）基板の場合と比較して、大きくなることが予想される。この表面電位は、高分子化合物の有する実効表面電位と極性が逆となるため、静電的な引力の作用により凝集が促進されると予想される。すなわち、低不純物濃度で高抵抗のn型シリコン基板の方が、高不純物濃度で低抵抗のn型シリコン基板より、基板表面により多くの結晶を析出させることができると予想される。

解離して正の表面実効電荷を有する高分子化合物については、上述したと逆関係の導電型または抵抗値について、同様の効果がもたらされると考えられる。

また以上に示す特性を利用して、基板の特定の領域で結晶核の形成を抑制し、特定の領域で結晶核の生成を促進させることができる。たとえば、図7Cに示すような構造において、第1のシリコンとして高抵抗のn型シリコンを用い、第2のシリコンとして低抵抗のn型シリコンを用いることによって、特定の溶液貯留部または溶液の通過する流路にまで結晶が析出するのを防止することができる。また価電子制御により結晶化に適した領域を特定の溶液貯留部に形成することによって、基板上で結晶成長を行なわせたい位置を制御することができる。

以上のように、空間的に抵抗の異なる領域を形成するには、シリコン表面に選択的に不純物をドーピングすることで容易に達成される。また別の方法として、シリコン表面をエッチングすることによって、抵抗値の異なる表面を露出させることも可能である。

本発明に用いられるn型およびp型シリコン結晶は、通常のLSIプロセスに用いられるシリコン上と同等の特性を有するものでよい。シリコン結晶の比抵抗は $0.0001 \sim 1000 \Omega \text{cm}$ 程度の範囲内であればよく、より好ましくは $0.001 \sim 100 \Omega \text{cm}$ の範囲のものをを用いることができる。n型およびp型に価電子制御されたシリコンの調整方法として、種々のものが考えられ、どのような方式のものでもよいが、最も簡便で不純物濃度の制御が正確に行なえる方法として、イオン注入法が挙げられる。この場合、p型およびn型の価電子制御は、そ

れぞれ周期律表第ⅠⅠⅠ族および第Ⅴ族に属する元素のイオンをシリコン中に注入、アニールすることによって容易に行なうことができる。p型にするためのⅠⅠⅠ族元素としてB、Al、Ga、In、Tl等を挙げることができる。特にBが一般的である。n型にするための第Ⅴ族元素としてN、P、As、Sb、Bi等を挙げることができ、特にP、As、Sbが一般的である。また、結晶の表面は、ミラーポリッシュされたものが、析出する結晶核の制御を行なう上で好ましい。

本発明において、シリコン基板表面に不純物層を形成する際、その厚みは、0.1～200μmが好ましく、1～50μmの範囲がより好ましい。これ以外の範囲では、作製が容易でなかったり、効果がなくなったりするため望ましくない。

以上、価電子制御が容易な半導体結晶シリコンを用いた例について説明したが、本目的を達成するため、同様の機能を有する他の材料を適宜用いることができる。たとえば、シリコン以外の半導体結晶を好ましく用いることもでき、さらには、半導体結晶以外の材料、たとえば電荷分布の制御された無機化合物、有機化合物、高分子化合物、およびそれらの複合物を候補として挙げることができる。本発明において、装置を構成する基板には複数の溝または孔が形成される。第2図に示す基板は複数のV溝を有している。溝の代わりに、たとえば角錐状または円錐状の孔を基板表面に設けてもよい。溝または孔は、深部に行くに従って開口の幅が狭くなっていることがより好ましい。実際の結晶成長に際しては、何種類かのサイズの溝または孔を1つの基板表面に多数設けておく方が有利である。

結晶化のために用いる装置は、あらゆる高分子化合物について適用できることが望ましい。一方、結晶化の対象となる分子のサイズや帯電特性等によって、必要とされる装置の特性も変わってくると考えられる。溝または孔のサイズについても、結晶化すべき分子のサイズ、帯電特性等に応じて変える必要があると考えられる。しかしながら、対象となる個々の高分子化合物ごとに溝または孔を有する基板で構成される装置を調製していたのでは、コストおよび時間がかかり、効率的とはいえない。そこで、予め基板上にサイズの異なる溝または孔を複数形成しておけば、対象となる分子種が変わったとしても、いずれかの溝または孔において、より好ましい結晶化の条件を提供できるはずである。したがって、1つの

装置で、種々の分子の結晶化を行なうことが可能になる。これにより、装置作製のための労力およびコストも低減される。

基板表面に形成される溝または孔の開口部のサイズおよび溝または孔の深さは、対象とする高分子の種類によって、適宜好ましい範囲を設定することが望ましい。

5 一般的には、溝または孔の開口部の幅は $0.01 \sim 100 \mu\text{m}$ の範囲が好ましく、溝の長さは $1 \sim 10 \text{mm}$ の範囲が好ましい。また、複数の溝または孔は、 $1 \mu\text{m} \sim 1 \text{mm}$ の範囲の間隔で適宜作製することができる。溝または孔の深さは、たとえば $0.01 \sim 200 \mu\text{m}$ の範囲で調整するのが好ましい。しかしながら、以上に述べたサイズは、主として装置の作製上の制約からくるものであって、これ以外

10 外のサイズであっても、装置の性能、すなわち結晶化に決定的な悪影響を及ぼすものではない。

また、シリコン基板等の装置表面には、溶液貯留部および流路を取囲むように撥水性の層を形成することが好ましい。この層は、溶液を保持する際に、溶液が周囲に流出するのを効果的に防止することができる。たとえば表面の酸化膜が除去されたシリコン表面は、一般に酸、アルカリのみを含む水や純水に対して十分に撥水性であるが、緩衝溶液のような塩を含有する水溶液に対して撥水性は低下する。したがって、緩衝溶液を用いる場合、シリコン基板の周囲に撥水性の物質からなる層を形成する必要がある。撥水性の層は、たとえば有機系の樹脂によって形成することができ、ポリイミド樹脂は最も簡便に撥水性の層を形成できる材料の1つである。ポリイミドからなる撥水性の層を形成する場合、たとえば感光性または非感光性のポリイミド樹脂をコーティングし、硬化させた後、所望のパターンとなるようエッチングまたは現像により不要な部分を除去することができる。

15

本発明で用いられる撥水層の厚みは機能的に特に限定する必要はないが、 $0.1 \sim 100 \mu\text{m}$ の範囲の厚みのものが比較的作製しやすい。また、撥水性を示しかつ溶液中で化学的に安定であれば、種々の材料をこの層のために用いることができる。

25

本発明の装置では、基板に電圧を印加することにより表面電位の分布を制御することができる。図8を参照して、本発明の装置を構成する基板にバイアス電圧

を印加した場合の動作原理について説明する。図に示す基板において、第1のシリコン層150a上には第2のシリコン層150bが形成される。溶液が貯留される部分には、第2のシリコン層が形成されておらず、第1のシリコン層が露出している。第1のシリコン層150aの裏側には電極層159が形成され、バイ

5 アス電圧を印加できるようになっている。第1のシリコンとしてたとえば高抵抗シリコン（N⁻シリコン）を用い、第2のシリコンとして低抵抗シリコン（N⁺シリコン）を用いることができる。この場合、バイアス電圧が印加されていないとき、シリコン表面の表面電位の分布はAで示されるチャートのようなになる。基板に正のバイアス電圧が印加されると、表面電位の分布は正の方向にシフトし、

10 全体的に電位が増加する（チャートB参照）。一方、負のバイアス電圧を印加すると、シリコン表面は溶液に対して電氣的にオーミック性となるため、表面電位の分布はほぼフラットになり、全体的に電位はほぼ0になる（チャートC）。このように、電圧を印加することによって、シリコン基板表面の電位分布を任意に変えることができる。電圧印加による表面電位の制御により、高分子化合物の素

15 子表面における凝集および結晶化をより積極的に制御することができる。なお、電圧を印加するための電極は、基板の裏面全体に設けてもよいが、結晶成長を行なわせたい部分のみに形成してもよい。たとえば図9に示すように、結晶成長用の溶液貯留部に相当する部分に電極90を形成し、パッド91を介して電圧を印加してもよい。

20 本発明では、結晶を成長させたい溶液貯留部に溝を形成することによって、対流の影響を抑制し、結晶の成長をより安定的に行なわせることができる。図10A～図10Cは、この溝の効果を説明するためのものである。たとえばエッチングにより溝を形成した部分では、形成していない部分に比べて、溶液中において解離した分子と基板表面との静電相互作用が及ぶ範囲（電気二重層の幅と考えて

25 もよい）が広くなることが期待できる。たとえば図10Aに示すように、シリコン基板120にV溝126aを形成した貯留部126に溶液125を保持させた場合、V溝126aの最も深い中央部では、この相互作用の及ぶ領域が重なり、その幅が広くなることが予想される。図では、点線により静電相互作用の及ぶ領域121を示している。したがって、V溝の中央部において、結晶核または結晶

核となる分子凝集体は、V溝表面から静電引力をほぼ等方的に受けることができ、V溝の空間内により強く拘束され得る。溶液125の上部では、重力等の影響によって対流129が発生する。一方、V溝内では、静電引力により分子が拘束されるようになるため、対流の影響が抑制される。したがって、V溝内では、結晶核が安定して生成され、結晶の成長が安定して行なわれると期待できる。このことは、図10Bに示すようなトレンチを形成した貯留部136についても当てはまると考えられる。シリコン基板130に形成されたトレンチ136aにおいて、静電引力の及ぶ領域131が重なり、溶液135の上部において発生する対流139の影響は、トレンチ136aの深部にまでは及ばないことが期待できる。トレンチ136a内において、結晶化すべき分子は静電引力133により拘束され、その結晶の成長は安定に進行することが期待できる。一般に、溶液内の対流の影響により結晶核近傍での拡散供給層の幅が変動するため、結晶性の低下や成長速度の低下が起これると考えられる。したがって、対流は可能な限り抑制するのがよい。

図10Cに示すような構造の場合、結晶化すべき分子は対流の影響を比較的受けやすいと考えられる。一方、静電引力123の及ぶ領域121は空間的に均一であり、基板140の平面内において電場の勾配は形成されない。このため、結晶化すべき分子の種類によっては、凝集の際に分子が二次元的に配列しやすくなり、好都合である場合もあると考えられる。

図11は、結晶成長用装置の一具体例を示している。この装置において、基板10は、容器161内において支持台162aおよび162b上に載置される。基板10の裏面には、電極19が形成されている。支持台162b上にも電極163bが形成されており、端子164bを介して電極19に電圧が印加できるようになっている。支持台162a上にも電極163aが設けられており、電極163aは基板10上に形成されたパッド31と電氣的に接続される。パッド31には、端子164aを介して電力が供給され、基板10に形成された溶液貯留部を加熱できるようになっている。容器161の底部には緩衝溶液166が収容され、その開口部は上蓋165で密封できるようになっている。このように溶液の蒸発を防ぐことのできる容器161の支持台162aおよび162b上に、基板

10を載置し、溶液15b、15d等の必要な溶液を基板10上に滴下する。なお、基板10は、上向きおよび下向きのどちらでもよい。容器161の底部に緩衝溶液166等を加えた後、上蓋165によって開口部を密封し、結晶化を開始することができる。結晶化の開始に際して、端子164aより電流を与え、溶液を加熱することができる。さらに、端子164bより基板10の裏面にバイアス電圧を印加することができる。溶液の加熱およびバイアス電圧の印加は連続的に行なってもよいし、断続的に行なってもよい。この状態において、液滴を保持する基板10を静置しておけば、基板の所定の部分において結晶成長を行なわせることができる。

本発明の好ましいもう1つの態様に従って、装置を構成する基板の表面に、複数種の溶液（たとえば母液、沈澱剤、緩衝溶液等）をそれぞれ液滴として保持するための複数の第1溶液貯留部と、複数の第1溶液貯留部から排出された溶液を受入れ目的の結晶を成長させるための第2溶液貯留部と、第2溶液貯留部から排出される溶液を受入れるための第3溶液貯留部とが形成され得る。この装置では、第1流路によって溶液を第1溶液貯留部から第2溶液貯留部に流す。また第2流路により、溶液を第2溶液貯留部から第3溶液貯留部に流す。流れの方向は一定の方向であり、逆流は抑制される。これらの流路によって、2種以上の溶液の相互拡散を空間的および時間的に変化させ、2種以上の溶液が混合される第2溶液貯留部において結晶化に適した条件を再現性よく制御することができる。一般に化学反応において、反応系を非平衡な開放系（散逸系）とすることで、反応生成物が時間的および／または空間的に安定に維持されたり、好ましい反応条件が達成される場合がある。この装置では、このような非平衡の開放系を実現するために、結晶を成長させるべき第2溶液貯留部から溶液を徐々に排出させて第3溶液貯留部に導いている。第2溶液貯留部における溶液の余剰分を第2流路を介して排出していくことが好ましい。このように第2溶液貯留部を開放系にすることで、第2溶液貯留部における溶液の濃度をほぼ一定に保つことができ、結晶成長に最適な濃度、pH等の条件を長時間維持することができるようになる。

本発明の装置では、開放系を得るため、溶液を選択的に一定方向に流すことができる。逆流を抑制して溶液を一定方向に流すため、第1流路および／または第

2 流路は、重力の方向に溶液を徐々に落下させていく構造とすることができる。
たとえば第 1 流路および／または第 2 流路は、基板上に形成された溝であり、か
つ階段状であるかまたは勾配を有するものとする。また第 1 流路お
よび／または第 2 流路は、幅および深さの異なる複数の溝から構成することがで
5 5 ける。溝の幅は上流から下流にいくに従って広がっていることが好ましい。また
溝を上流から下流にいくに従って深くすることで、階段状または勾配を有する構
造を形成することができる。本発明の装置において、溶液の拡散は、微細な溝部
での毛管現象を駆動力として用いることができる。そして上述した構造により、
溶液の流れの方向および流量を制御することができる。なお、溝は基板自体を加工
10 して作製してもよいし、基板上に酸化膜等の膜を形成し、その膜を加工して作
製してもよい。

また、流路のサイズを変えることにより、溶液の供給量を変えることができる。
結晶化を行なうべき第 2 溶液貯留部に供給される溶液の流量を変えることによっ
て、複数の溶液の混合比を制御することができる。複数の流路ごとに流量を調
15 節すれば、より多様な混合比を得ることができ、したがって結晶化のためより多
くの条件を調製することができる。

また装置において、基板や貯留される溶液を加熱するための手段を設けること
ができる。このような手段は、たとえば基板に形成される加熱電極とすることが
できる。加熱された各溶液は、その体積の膨張を推進力として流路に押出される。
20 また加熱された溶液は粘性が低下するため流れやすくなる。したがって、加熱に
より溶液の移行は促進される。また加熱手段によって基板を部分的に加熱すれば、
基板内に温度勾配を設けることができる。温度勾配に従って、複数の第 2 溶液貯
留部に温度差が生じる。温度の異なる溶液において、結晶化すべき物質の溶解度
も異なる。したがって、温度差により 1 つの装置においてより多くの結晶化のため
25 の条件を得ることができる。

さらに装置において、基板に電圧を印加することができる。電圧は、たとえば
溶液貯留部が形成された面と反対の基板面に形成される電極を介して印加するこ
とができる。このような電極は、少なくとも第 2 溶液貯留部に電圧を印加できる
よう設けることが好ましい。電極を介してバイアス電圧を印加することにより、

基板表面に働く静電的な効果を増大させたり減少させたりすることができる。特に第2溶液貯留部においてたとえば基板の表面電位を増加させることにより、結晶成長の促進を図ることができる。電圧の印加により、結晶化すべき分子の基板表面に対する選択的な反応および凝集作用を向上させることができる。電圧の印加によって表面電位の分布を制御する動作原理は、たとえば図8に示すとおりである。

また、第2溶液貯留部に微細加工によって溝または孔を形成することにより、基板に働く静電引力の対流抑制に対する効果を向上させることができる。特に基板に形成された溝の底部では、結晶化すべき分子に対して静電的相互作用をほぼ等方的に及ぼすことができる。溝の底部で結晶核が形成される場合、静電的相互作用により結晶核を溝の底部に静止させ、重力の影響に基づく対流から結晶核を保護することが可能になる。ほぼ静止した核に基づいて結晶が成長していけば、過剰な微結晶の生成は抑制され、結晶核の表面に規則的に分子が集合した大型の結晶を得ることができると期待される。一方、第2溶液貯留部の周囲に溝を形成することで、溶液が流路より供給される際に発生しやすい結晶化部での対流を抑制することができる。すなわち、溶液の供給時に対流を溝内で主に発生させ、結晶化部では対流の影響を緩和できる。

本発明の装置における溶液貯留部および流路の配置のさらなる具体例を図12に示す。装置を構成する基板の表面には、第1溶液貯留部に相当する溶液セル210aおよび210b、第2溶液貯留部に相当する反応セル214a、ならびに第3溶液貯留部に相当する廃液セル218a、218bおよび218cが適当な位置に形成されている。溶液セル210aおよび210bと反応セル214aとはそれぞれ第1流路212aおよび212bで連結される。反応セル214aと廃液セル218aとの間は第2流路216aで連結され、さらに廃液セル218aと218bの間ならびに218bと218cの間に第2流路216bおよび216cが設けられている。溶液は矢印の方向に沿って流れるようになっている。なお、各セルの個数は図12に示した数以外であっても差し支えない。たとえば溶液セルは3以上とすることができ、反応セルは2以上とすることができる。一方廃液セルは1または2個としてもよいし、4個以上であってもよい。それぞれ

の反応セルの個数および配置に応じて、流路を設けることができる。たとえば、溶液セル 2 1 0 a から結晶化を行なうべき蛋白質等の高分子化合物を含む母液を供給し、溶液セル 2 1 0 b から緩衝溶液等の結晶化の条件を制御するための溶液を供給することができる。反応セル 2 1 4 a は、これらの溶液を受入れ、結晶化
5 に適した混合液を調製する。また、分子複合体を形成したいとき、反応セル 2 1 4 a において複合体を形成すべき 1 つの分子種を保持させ、溶液セル 2 1 0 a に他の分子種を保持させ、溶液セル 2 1 0 b に条件設定のための溶液を保持させてもよい。反応セル 2 1 4 a に溶液セルからそれぞれ溶液を供給して反応を起こさせることができる。

10 図 1 3 は、流路の一例を示している。図に示す流路は、基板表面に形成された複数の V 字状の溝（V 溝）から構成される。図 1 4 は図 1 3 の L-L' 断面図であり、図 1 5 A～図 1 5 C は、図 1 3 の X-X' 断面図、Y-Y' 断面図および Z-Z 断面図をそれぞれ示している。流路 2 2 2 は、幅および深さの異なる V 溝部 2 2 2 a、2 2 2 b および 2 2 2 c から構成される。溶液の流される方向は矢印によって示される。V 溝部の幅および深さは上流から下流にいくに従って大き
15 くなっている。また流路の幅は一定であるため、V 溝の密度は上流から下流にいくに従って小さくなっている。このような構造により、図 1 4 に示すように流路 2 2 2 は V 溝部 2 2 2 a、2 2 2 b および 2 2 2 c によって階段状の形状とされている。このような構造を有する流路において、溶液は毛管現象によって矢印の
20 方向に進む一方、溶液の逆流は妨げられることになる。

図 1 3 には、基板の表面に V 溝を形成した流路を示したが、溝の形状はこの形状に限られるものではない。たとえば U 字型の溝等、他の形状の溝を形成してもよい。また溝は、基板自体に形成してもよいし、基板上に絶縁性の膜等の膜を形成した後、これを加工して作製してもよい。

25 図 1 6 は、基板上に形成された溶液保持部および流路の一例を示している。たとえばシリコン結晶からなる基板 2 2 0 上には、第 1 溶液貯留部に相当する溶液セル 2 2 0 a、第 2 溶液貯留部に相当する反応セル 2 2 4 および第 3 溶液貯留部に相当する廃液セル 2 2 8 が配置されている。溶液セル 2 2 0 a は、たとえば酸化シリコンからなる膜 2 2 0' a によって囲まれた領域とすることができる。膜

2 2 0' a が形成されていない窪んだ領域に母液、緩衝溶液等の溶液の液滴 2 2 1 が保持される。溶液は第 1 流路 2 2 2 a を伝わって次第に反応セル 2 2 5 に拡散していく。第 1 流路 2 2 2 a は、たとえば図 1 3 ~ 1 5 C に示すような溝とすることができる。一方、反応セル 2 2 4 は、基板表面のエッチングによって形成された溝または孔とすることができる。この溝または孔に溶液が次第に流入し、反応セル 2 2 4 に保持される溶液の体積は増大していく。反応セル 2 2 4 と廃液セル 2 2 8 との間には、反応セル 2 2 4 をオーバーフローした溶液が廃液セル 2 2 8 に流入するよう第 2 流路 2 2 6 が形成されている。廃液セル 2 2 8 は、たとえば反応セル 2 2 4 よりも深い溝または孔で構成されることが好ましい。反応セル 2 2 4 には、複数の溶液セルから複数種の溶液が供給され、混合液が調製される。結晶化すべき分子種を含む母液は、反応セル 2 2 4 において他の溶液により希釈される。母液を含む液滴 2 2 5 のうち過剰な部分は反応セル 2 2 4 から第 2 流路 2 2 6 を介して廃液セル 2 2 8 に流入するようになる。この流れにより、反応セル 2 2 4 内の溶液の体積はほぼ一定に保たれ、しかも母液が極限まで希釈された平衡状態に達することを防ぐことができる。すなわち、反応セル 2 2 4 において液の流入のバランスにより所定の希釈率を得ることが可能である。

図 1 7 に本発明の装置のもう 1 つの具体例を示す。基板 2 3 0 上には、溶液セル 2 3 0 a、2 3 0 b および 2 3 0 c が適当な間隔を空けて配置される。溶液セル 2 3 0 a および 2 3 0 b からそれぞれ供給される溶液を受入れるべく、反応セル 2 3 4 - 1、2 3 4 - 2、2 3 4 - 3、2 3 4 - 4 ... 2 3 4 - n が設けられている。一方溶液セル 2 3 0 a および 2 3 0 c からそれぞれ供給される溶液を受入れるべく、反応セル 2 3 4' - 1、2 3 4' - 2、2 3 4' - 3、2 3 4' - 4 ... 2 3 4' - n が設けられている。溶液セル 2 3 0 a からは、第 1 流路 2 3 2 - 1 a ~ 2 3 2 - n a ならびに 2 3 2' - 1 a ~ 2 3 2' - n a が各反応セルに延びている。溶液セル 2 3 0 b からは第 1 流路 2 3 2 - 1 b ~ 2 3 2 - n b が各反応セルに延びており、溶液セル 2 3 0 c からは第 1 流路 2 3 2' - 1 b ~ 2 3 2' - n b が各反応セルに延びている。図に示すように、複数の反応セルにはそれぞれ長さおよび幅の異なる第 1 流路が連結されているため、溶液セルから各反応セルに流入する溶液の流速は異なることになる。したがって、各反応セルにお

いてそれぞれ異なった濃度の混合液が得られる。さらに基板には各反応セルに対応して廃液セル 238-1 ~ 238-n ならびに 238'-1 ~ 238'-n が設けられている。これらの廃液セルと各反応セルとは、それぞれ第 2 流路 236-1 ~ 236-n ならびに 236'-1 ~ 236'-n により連結される。

5 また基板 230 上には、加熱用電極 231 a および 231 b、ならびに測温用電極 235 a および 235 b が所定のパターンで形成されている。加熱用電極 231 a および 231 b には、基板 230 上に形成された端子 233 a および 233 b を介して電力が供給される。測温用電極 235 a および 235 b は、基板 230 上に形成された端子 237 a および 237 b にそれぞれ接続されている。これら
10 の電極および端子は、予め基板上にたとえば酸化シリコンからなる絶縁膜 239 a および 239 b を所定のパターンで形成し、その上にたとえばクロム薄膜のパターンを形成することにより容易に作製することができる。加熱用電極 231 a および 231 b に通電することにより、基板を加熱することができる。

15 以上に示してきた本発明の装置の構造は、半導体装置の製造プロセスに用いられる技術によって得ることが可能である。この技術は、薄膜形成、レジストパターン形成、フォトリソグラフィ、エッチング等の技術を含む。特に基板としてシリコン結晶を用いる場合、半導体装置の製造プロセスにおいて確立された種々の技術を容易に適用することができる。図 18 A ~ 図 18 D は、本発明の装置における流路を形成するための 1 プロセスを示している。基板としてシリコン結晶を用いる場合、まずシリコン基板 240 上に酸化シリコン (SiO_2) 膜 241 を形成する (図 18 A)。次に、酸化シリコン膜を所定のパターン 241' にエッチングする (図 18 B)。露出したシリコン表面に異方性エッチングを施せば、
20 V 溝 242 a および 242 b が得られる (図 18 C)。また、必要に応じて酸化シリコン膜をエッチングにより除去する (図 18 D)。このようなプロセスにより、V 溝によって構成される流路を得ることができる。

25 溶液貯留部は、結晶化したい物質の性質、結晶化の難易に応じて種々の構造とすることができる。シリコン結晶の表面は通常、結晶欠陥および固定電荷が極めて少ないため、余分な結晶核を生成させにくいといった長所を有する。したがって、シリコン結晶の表面を結晶成長のための溶液貯留部としてそのまま用いるこ

とも可能である。また、結晶化すべき蛋白質等の分子の特性に応じてシリコン結晶の表面にシリコン酸化膜を形成すれば、親水性を高めることもできる。

結晶核の形成を促進および抑制する具体例をさらに示す。たとえば、結晶化すべき分子が電解溶液中で負の実効表面電荷を有する場合は、図 19 および図 20
5 に示すように、n 型シリコン層上に所定のパターンで p 型シリコン層を積層することによって、n 型シリコン表面への結晶の析出を抑制し、所定のパターンで形成された p 型シリコン層上にのみ選択的に結晶を成長させることができる。図 19 および 20 に示す反応セル 254 では、n 型シリコン層 254 b 上に、所定の
10 間隔を空けて複数の p 型シリコン層からなるアイランド 254 a が配列されている。n 型シリコン層の上部に p 型シリコン層のアイランドを形成することによって、両者の空間電荷により形成される表面電位は、たとえば図 21 のようになることが予想される。よって、この表面電位の分布に対応して結晶核が二次的に生成されるものと考えられる。反応セルの特定の領域に価電子制御によって結晶化に
15 適した部分を形成することにより、余分な結晶核の生成や双晶の成長を抑制して、特定領域に結晶性が良好でかつサイズの大きな結晶を成長させることができる。このような構造は、結晶を析出させる位置を制御することを可能にする。

このように空間的に抵抗および／または不純物元素の種類の異なる領域を形成することは、シリコン結晶等からなる基板に選択的に不純物をドーピングすることによって容易に達成することができる。さらに別の方法として、シリコン結晶
20 等からなる基板の表面をエッチングすることによって抵抗値の異なるシリコン表面を露出させてもよい。図 22 は、基板の表面をエッチングした一例を示している。n 型シリコン層 274 b 上に p 型シリコン層を全面的に形成した後、エッチングにより溝 274 c を形成し、p 型シリコン層のアイランド 274 a が得られる。このような構造の基板における表面電位は図 22 に示すとおりである。エッ
25 チングにより n 型シリコン層 274 b が露出した部分は表面電位が低くなっている。

さらに、図 19 および 20 に示す装置において、反応セル 254 の周囲には V 溝 254 c が形成されている。この溝は結晶化の目的に応じて適宜形成することができる。流路 252 a および 252 b から供給される溶液は一旦溝 254 c に

貯留された後、p型シリコン層のアイランドを有する窪みに供給される。また溶液は溝254cを介して流路256から廃液セルへと送られる。図23A～図23Cは、反応セルに形成された溝部の役割を説明するためのものである。結晶化を始めるにあたって、高分子化合物を含む母液は溝部254cに供給され、表面張力によって液滴251として保持される（図23A）。この状態において結晶の生成は抑制される。液滴と接触する基板の表面は、価電子制御により結晶の生成を抑制するものだからである。次いで、図23Bに示すように、溶液が流路を介して供給されるに従い、液滴251の体積が増大し、やがて溶液は反応セル254内のp型シリコン層のアイランドを含む平坦部に移動するようになる。最終的に図23Cに示すように、溶液251'は平坦部全体を覆い、p型シリコン層のアイランド254bにおいて結晶化が促進される。このように結晶化を行なうべき母液の周囲にV溝を形成することで、結晶化を行なうべき領域における対流を抑制することが期待できる。すなわち、溶液の供給時に対流はV溝内で主に発生し、結晶化を行なう平坦部では対流が緩和されると考えられる。

本発明の装置において、第2溶液貯留部としての反応セルの表面には、上述したように複数の溝または不純物元素が添加されたアイランドを形成することができる。複数種のサイズの溝またはアイランドを1つの反応セルに作製してもよい。基板表面に形成される溝のサイズおよび深さ、ならびにアイランドのサイズは、結晶化すべき高分子化合物の種類によって適宜変更することが望ましい。一般的に、溝またはアイランドの幅は0.01～100μmの範囲とすることができる。溝の長さはたとえば0.1～10mmの範囲とすることができる。また溝またはアイランドは、1μm～1mmの範囲の間隔で複数作製することができる。サイズの異なるアイランドおよび溝を多数形成しておけば、結晶化により好ましい領域を提供できる可能性が高くなる。また溝の深さは、0.01～200μmの範囲で調整することができる。なおこれらのサイズは、主として装置の製造上好ましい範囲であるが、これらの範囲以外であっても、装置の性能、すなわち結晶化に決定的な悪影響を及ぼすものではない。

基板表面に形成される第2溶液貯留部としての反応セルのサイズは、用いられる溶液の量によって決定されるべきである。一般に反応セルのサイズは、0.1

～10 mm角程度が好ましい。また、基板表面をエッチングすることによって孔または窪みを有する反応セルを形成する場合には、孔または窪みの深さは、0.01～500 μ m程度の範囲が好ましい。

5 流路は、基板自体または基板表面に形成された酸化膜等の膜をエッチングすることによって形成することができる。溝の幅は、たとえば0.01～10000 μ mの範囲とすることができる。溝の長さは0.1～100 mmの範囲で作製することが好ましい。また、0.01～10000 μ mの範囲の間隔で複数の溝を作製することが好ましい。さらに溝の深さは、0.01～200 μ mの範囲で調整することが好ましい。これらの範囲のサイズをそれぞれ有する複数の溝によつて、流路を構成することができる。複数の溝によって構成される流路全体の幅は、10 1 μ m～10 mmの範囲とすることができる。

また、シリコン基板等の固体素子表面には、溶液貯留部および流路を取囲むように撥水性の層を形成することが好ましい。この層は、溶液を保持する際に、溶液が周囲に流出するのを効果的に防止することができる。たとえば表面の酸化膜が除去されたシリコン表面は、一般に酸、アルカリのみを含む水や純水に対して十分に撥水性であるが、緩衝溶液のような塩を含有する水溶液に対して撥水性は低下する。したがって、緩衝溶液を用いる場合、シリコン基板の周囲に撥水性の物質からなる層を形成する必要がある。撥水性の層は、たとえば有機系の樹脂によって形成することができ、ポリイミド樹脂は最も簡便に撥水性の層を形成できる材料の1つである。ポリイミドからなる撥水性の層を形成する場合、たとえば感光性または非感光性のポリイミド樹脂をコーティングし、硬化させた後、所望のパターンとなるようエッチングまたは現像により不要な部分を除去することができる。

25 本発明で用いられる撥水層の厚みは機能的に特に限定する必要はないが、0.1～100 μ mの範囲の厚みのものが比較的作製しやすい。また、撥水性を示しかつ溶液中で化学的に安定であれば、種々の材料をこの層のために用いることができる。

本発明の好ましい他の態様に従って、基板の表面に、結晶成長のために用いられる溶液（たとえば母液、沈澱剤、緩衝溶液等）を液滴として保持するための第

1 溶液貯留部と、第1溶液貯留部から排出された溶液を受入れ、目的の結晶を成長させるための第2溶液貯留部と、第2溶液貯留部からの溶液を受入れるための第3溶液貯留部とが形成され得る。第1溶液貯留部は、複数種の溶液をそれぞれ保持するため、複数設けられることが好ましい。第1溶液貯留部と第2溶液貯留部とは、基板の表面に設けられた流路によってつながっている。この流路により、結晶成長のために用いられる溶液が第1貯留部から第2貯留部に送られる。第2溶液貯留部が複数設けられる場合、第1溶液貯留部の各々から第2溶液貯留部に溶液を送るため、複数の流路が設けられる。この装置において、第2溶液貯留部は基板の表面に設けられ、第3溶液貯留部は基板の裏面に設けられる。第2溶液貯留部と第3溶液貯留部とは、基板を貫通する貫通孔によってつながっている。このように、3つの溶液貯留部を流路および貫通孔によって連絡することで、各貯留部に保持される溶液の相互拡散を空間的および時間的に変化させ、特に第2溶液貯留部および／または第3溶液貯留部において結晶化に適した条件を再現性よくもたらそうとしている。一般に化学反応において、反応系を非線形でかつ非平衡な開放系（散逸系）とすることで、化学反応が時間的および／または空間的に安定に維持されたり、好ましい反応条件が達成されたりする場合がある。また、このような開放系によって、生体内に類似する微妙な反応条件が実現され得る場合もある。本発明では、このような非平衡の開放系を人工的に実現するため、基板の表面に形成された第2溶液貯留部と、基板の裏面に形成された第3溶液貯留部とを貫通孔によってつなぎ、これらの貯留部の間での液の流通を可能にしている。このような構造は、後述するように、2つの貯留部間で相互に物質の移動が起こる非平衡な系を実現する。

この装置において第2溶液貯留部を複数設けることができる。これらの第2溶液貯留部には、溶液を運ぶ複数の流路がそれぞれ接続される。これらの流路のうち、第2溶液貯留部の1つに向かう流路は、第2溶液貯留部の他の1つに向かう流路と異なる長さおよび／または幅を有することができる。さらに必要に応じて、その深さを変えてもよい。それにより、流路のそれぞれによって送られる溶液の流速は異なってくる。複数の第2溶液貯留部間で、受入れる溶液の流量は異なってくる。このため、複数の第2溶液貯留部間において、2種類以上の溶液が異な

る比率で混合された液を調製することができる。

この装置において、溶液貯留部間における溶液の拡散は、微細な溝および微細な貫通孔での毛管現象を駆動力とすることができる。たとえば、溶液を通過させるための流路は、微細な複数の溝から構成することができる。溝は、基板自体をエッチング等によって加工することにより形成してもよいし、基板上に設けられた膜をエッチング等により加工することにより形成してもよい。流路を構成するために、幅および／または深さの異なる複数の溝を形成し、溝の幅を上流から下流にいくに従って広げることが好ましい。また、溝を上流から下流にいくに従って深くすることで、階段状または勾配を有する構造を形成することができる。溝の幅および／または深さは、連続的に変化させてもよいし、段階的に変化させてもよい。このように溝の幅および／または深さを上流から下流にいくに従って変化させることで、溶液の流れの方向および流量を制御することが可能になる。

また、流路のサイズを変えることにより、溶液の供給量を変えることができる。結晶化を行なうべき第2溶液貯留部に供給される溶液の流量を変えることによって、複数の溶液の混合比を制御することができる。複数の流路ごとに流量を調節すれば、より多様な混合比を得ることができ、したがって結晶化のためより多くの条件を調製することができる。

また装置において、基板や貯留される溶液を加熱するための手段を設けることができる。このような手段は、たとえば基板に形成される加熱電極とすることができる。加熱された各溶液は、その体積の膨張を推進力として流路に押出される。また加熱された溶液は粘性が低下するため流れやすくなる。したがって、加熱により溶液の移行は促進される。また加熱手段によって基板を部分的に加熱すれば、基板内に温度勾配を設けることができる。温度勾配に従って、複数の第2溶液貯留部に温度差が生じる。温度の異なる溶液において、結晶化すべき物質の溶解度も異なる。したがって、温度差により1つの装置においてより多くの結晶化のための条件を得ることができる。また、第2溶液貯留部および／または第3溶液貯留部のそれぞれに温度勾配をもたせることで、貯留部内の溶液が熱力学的に非平衡な状態となる。この場合、さらに好ましい反応条件が生成されることが期待される。

また、第2溶液貯留部に微細加工によって溝または孔を形成することにより、基板に働く静電引力の対流抑制に対する効果を向上させることができる。特に基板に形成された溝の底部では、結晶化すべき分子に対して静電的相互作用をほぼ等方的に及ぼすことができる。溝の底部で結晶核が形成される場合、静電的相互作用により結晶核を溝の底部に静止させ、重力の影響に基づく対流から結晶核を保護することが可能になる。ほぼ静止した核に基づいて結晶が成長していけば、過剰な微結晶の生成は抑制され、結晶核の表面に規則的に分子が集合した大型の結晶を得ることができると期待される。一方、第2溶液貯留部の周囲に溝を形成することで、溶液が流路より供給される際に発生しやすい結晶化部での対流を抑制することができる。すなわち、溶液の供給時に対流を溝内で主に発生させ、結晶化部では対流の影響を緩和できる。

本発明による装置のさらなる具体例を図24および図25に示す。図24は、各溶液貯留部、流路および電極の配置を模式的に示している。図25は、装置の構造の一具体例を示す断面図である。装置を構成する基板310の表面には、第1溶液貯留部に相当する複数の溶液セル312a、312b、312c、314a、314bおよび314c、ならびに第2溶液貯留部に相当する反応セル318a、318bおよび318cが適当な位置に形成されている。これらの溶液セルと反応セルとの間には、それぞれ流路316a、316b、316c、316'a、316'bおよび316'cが形成されている。これらの流路は、溶液セルから反応セルへの溶液の移動を可能にする。図25に示すように、溶液セルおよび反応セルは、基板310に形成された凹部または孔とすることができる。また流路は、基板310上に形成された膜17を加工することにより形成することができる。図25に示すように、基板310の裏面において、反応セル318aに対向する位置に第3溶液貯留部に相当する反応セル320aが形成されている。反応セル320aも、基板310に形成された凹部または孔とすることができる。表面の反応セル318aと裏面の反応セル320aとの間には、複数の貫通孔322aが形成されている。貫通孔322aは、基板表面と裏面との間の液の流通を可能にする。図示を省略したが、基板310の裏面において反応セル318bおよび318cに対向する位置にも同様に反応セルがそれぞれ設けられ、

貫通孔 3 2 2 b および 3 2 2 c によって表面の反応セルと裏面の反応セルとの間の液の流通が可能になっている。なお、各セルの個数は図 2 4 に示した数以外であつても何ら差し支えない。さらに図 2 4 に示すように、基板 3 1 0 の端部には、加熱用電極 3 2 6 および温度測定用電極 3 2 4 が設けられている。この装置において、反応セルに予め結晶化すべき高分子たとえば蛋白質等の母液を供給しておき、複数の溶液セルから、結晶化のために必要な溶液を反応セルに供給するようにしてもよい。また、溶液セル 3 1 2 a ~ 3 1 2 c から、それぞれ結晶化を行なうべき蛋白質等の高分子化合物を含む母液を供給し、溶液セル 3 1 4 a ~ 3 1 4 c からそれぞれ緩衝溶液等の結晶化の条件を制御するための溶液を供給することができる。反応セル 3 1 8 a ~ 3 1 8 c はそれぞれこれらの溶液を受入れ、結晶化に適した混合液を調製する。また、分子複合体を形成したいとき、反応セル 3 1 8 a ~ 3 1 8 c においてそれぞれ複合体を形成すべき 1 つの分子種を保持させ、溶液セル 3 1 2 a ~ 3 1 2 c にそれぞれ他の分子種を保持させ、溶液セル 3 1 4 a ~ 3 1 4 c にそれぞれ条件設定のための溶液を保持させてもよい。反応セル 3 1 8 a ~ 3 1 8 c に溶液セルからそれぞれ溶液を供給して反応を起こさせ、分子複合体を調製することができる。さらに、裏面の反応セルに予め溶液を保持させておき、次いで、各溶液セルより流路を介して表面の反応セルに溶液を供給してもよい。この操作により、裏面に保持された溶液と表面に保持された溶液との相互拡散を徐々に行なうことができる。

図 2 6 A ~ 図 2 6 D は、第 2 溶液貯留部に相当する反応セルの種々の構造を示している。図 2 6 A に示す反応セルは、最も基本的な構造を有している。基板 3 4 0 a の表面には凹部または孔が形成され、反応セル 3 4 8 a とされている。基板 3 4 0 a の裏面にも凹部または孔が形成され、反応セル 3 5 0 とされている。反応セル 3 4 8 a と反応セル 3 5 0 とは、複数の貫通孔 3 4 2 によって連結される。図 2 6 B に示す構造では、基板 3 4 0 b の表面に、不純物層 3 4 1 b が形成されており、表面の反応セル 3 4 8 b においては、不純物層 3 4 1 b が除去された部分と不純物層 3 4 1 b が残された部分とが所定のパターンで配置されている。不純物層 3 4 1 b が残された部分 3 4 3 b は、山状の形状を有する。後述するように、反応セルにおいて不純物層を所定のパターンで配置することにより、核形

成が促進される位置を制御することができる。図 2 6 C に示す反応セル 3 4 8 c においては、不純物層 4 1 c が残された部分 4 3 c は、台状の形状を有している。基板 3 4 0 c の裏面には、同様に反応セル 3 5 0 が設けられている。図 2 6 D に示す反応セル 3 4 8 d においては、不純物が導入されていない部分 3 4 3 c が所定のパターンで配置される。基板 3 4 0 d の表面において他の部分は不純物層 3 4 1 d によって覆われている。

図 2 7 は、装置の使用例を模式的に示している。基板 3 6 0 からなる本発明の装置は支持脚 3 8 7 等によって支持され、容器 3 8 1 内に收容される。容器 3 8 1 の底には緩衝溶液等の溶液 3 8 5 が保持されており、容器 3 8 1 の開口部は、溶液の蒸発を防ぐために蓋 3 8 3 によって密閉されている。支持脚 3 8 7 によって水平に保持された基板 3 6 0 の溶液セル 3 6 2 および 3 6 4 には、緩衝溶液等の結晶化の条件を調節するための溶液または蛋白質等の結晶化すべき物質を含む溶液等が滴下されている。溶液セル 3 6 2 および 3 6 4 にそれぞれ保持される液滴 3 7 1 および 3 7 3 の一部は、それぞれ流路 3 6 6 および 3 6 6' を介して基板 3 6 0 の上面に形成された上部反応セル 3 6 8 に流れ込むようになる。流れ込んだ溶液は、貫通孔 3 7 2 を介して基板の下面に形成された下部反応セル 3 7 0 に移行する。このようにして、下部反応セル 3 7 0 には、重力の方向に垂れ下がった液滴 3 7 5 が保持される。溶液は、毛管現象により、移動し、各反応セルに保持されていく。このような溶液の流通を行ないながら、反応セルにおいて所望の結晶化および／または反応を行なわせることができる。

図 2 8 A ~ 図 2 8 C は、貫通孔によって連結された上部反応セルと下部反応セルの動作原理を示す。図 2 8 A に示すように、溶液は流路 3 6 6 および 3 6 6' を介して基板 3 6 0 の上面に形成された上部反応セル 3 6 8 に流入するが、流入した液は貫通孔 3 7 2 によって下部反応セル 3 7 0 に流れ落ち、液滴 3 7 5 として保持される。図 2 8 B に示すように、溶液をさらに上部反応セル 3 6 8 に流入させていくと、重力の方向に垂れ下がった液滴 3 7 5 が下部反応セル 3 7 0 に保持されたまま、上部反応セル 3 6 8 にも溶液が少しずつ保持されるようになる。このときの溶液の流れの方向は、主に矢印で示すとおりである。さらに溶液を上部反応セル 3 6 8 に流入させると、図 2 8 C に示すような液の流通が行なわれる

ようになる。貫通孔 372 の径を適当なサイズにしておくと、図 28C の A に示すように、1 つの貫通孔内で上方向および下方向の流れが同時に生じるようになる。また、図 28C の B に示すように、複数の貫通孔間で、同調して逆向きの流れが生じるようになる。一見すると、反応セル内で溶液が平衡状態にあるように見えるが、実際には、このような非線形的な振動現象のため、反応セルに保持される溶液は、熱力学的な平衡状態ではなく、溶液の流れがリズムをもって変動する生物学的な「生きた状態」にある。このような非平衡的環境により、結晶化の現象を含む化学的反応が永続的に進行することが期待できる。

図 29A は、図 28A ~ 図 28C に示す現象を時間に対する溶液濃度の変化として示したものである。図 29A において、横軸は時間、縦軸は溶液濃度を表わしている。たとえば、溶液同士をビーカー等の中で単純に混合すると、ビーカーにおいてある物質の濃度は次第に減少し、やがて一定の値となり、その後は全く変化しない。そのような経過は、図 29A において曲線 Z で示される。一方、本発明の装置においては、図 28A ~ 図 28C に示すような流れが反応セル間で生じるため、物質濃度の経時的変化は図 29A の曲線 X または Y に示すような経過を辿っていく。すなわち、濃度は、長時間にわたって周期的に変動するようになる。このような濃度変化は、生体内における種々の物質に起こる現象と類似する。図 29B は、図 29A に示す濃度変化の位相軌道曲線を示している。図 29B に示す曲線 X'、Y' および Z' は、図 29A に示す曲線 X、Y および Z にそれぞれ対応している。

図 30 に、この装置に形成される流路の一具体例を模式的に示す。流路 386 は、複数種の溝 386a、386b、386c、386d および 386e によって構成される。各溝 386a ~ 386e は所定の長さを有し、隣り合う溝と部分的に重なっている。図面に向かって右側の溝は左側の溝よりも広い幅を有する。このように溝の幅を変えていくことによって、毛管現象による駆動力により図に示す矢印の方向に溶液を流すことができる。流路を構成する溝は、たとえば図 31A、図 31B に示すような断面構造を有する。図 31A に示す溝 396 は、基板 390 上に形成された複数の壁 391 によって構成される。基板としてシリコンを用いた場合、垂直に切り立った壁 391 は、たとえば酸化シリコンから構成

することができる。また図 3 1 B に示すように、基板 3 9 0 上にたとえば異方性エッチングによって V 字形の溝 3 9 6' を形成することもできる。基板にたとえばシリコンを用いる場合、このような V 溝は、半導体装置の製造に用いられる通常の方法によって形成することができる。

5 装置において図 1 3 に示すような流路を設けてもよい。そのような流路は、たとえば図 1 8 A ~ 図 1 8 D に示すようなプロセスにおいて形成できる。V 溝の代わりに、U 字形の溝など、他の形状の溝を形成してもよい。溝は基板自体に形成してもよいし、基板上に形成された絶縁膜などの膜を加工することによって得てもよい。装置は、半導体装置の製造プロセスに用いられる技術によって得ることができる。

貫通孔を有する装置において、たとえば、結晶化すべき分子が電解溶液中で正の実効表面電荷を有する場合は、図 3 2 および図 3 3 に示すように、高抵抗 n 型シリコン層上に所定のパターンで低抵抗 n 型シリコン層を形成することによって、高抵抗 n 型シリコン表面への結晶の析出を抑制し、所定のパターンで形成された低抵抗 n 型シリコン層上にのみ選択的に結晶を成長させることができる。図 3 2 および 3 3 に示す反応セル 4 2 8 では、高抵抗 n 型シリコン層 4 2 8 b 上に、所定の間隔を空けて複数の低抵抗 n 型シリコン層からなるアイランド 4 2 8 a が配列されている。このようなアイランドを形成することによって、両者の空間電荷により形成される表面電位は、たとえば図 3 4 のようになることが予想される。よって、この表面電位の分布に対応して結晶核が二次的に生成されるものと考えられる。反応セルの特定の領域に価電子制御によって結晶化に適した部分を形成することにより、余分な結晶核の生成や双晶の成長を抑制して、特定領域に結晶性が良好でかつサイズの大きな結晶を成長させることができる。このような構造は、結晶を析出させる位置を制御することを可能にする。

25 このように空間的に抵抗および／または不純物元素の種類の異なる領域を形成することは、シリコン結晶等からなる基板に選択的に不純物をドーピングすることによって容易に達成することができる。さらに別の方法として、シリコン結晶等からなる基板の表面をエッチングすることによって抵抗値の異なるシリコン表面を露出させてもよい。図 3 5 は、基板の表面をエッチングした一例を示してい

る。高抵抗n型シリコン層438b上に低抵抗n型シリコン層を全面的に形成した後、エッチングにより溝438cを形成し、低抵抗n型シリコン層のアイランド438aが得られる。このような構造の基板における表面電位は図17に示すとおりである。エッチングにより高抵抗n型シリコン層438bが露出した部分は表面電位が高くなっている。

さらに、図32および33に示す装置において、反応セル428の周囲にはV溝428cが形成されている。この溝は結晶化の目的に応じて適宜形成することができる。流路426aおよび426' bから供給される溶液は一旦溝428cに貯留された後、低抵抗n型シリコン層のアイランドを有する窪みに供給される。また溶液は貫通孔432を介して対向するセル（図示省略）へと送られる。図36A～図36Cは、反応セルに形成された溝部の役割を説明するためのものである。結晶化を始めるにあたって、高分子化合物を含む母液は溝部428cに供給され、表面張力によって液滴421として保持される（図36A）。この状態において結晶の生成は抑制される。液滴と接触する基板の表面は、価電子制御により結晶の生成を抑制するものだからである。次いで、図36Bに示すように、溶液が流路を介して供給されるに従い、液滴421の体積が増大し、やがて溶液は反応セル428内の低抵抗n型シリコン層のアイランドを含む平坦部に移動するようになる。最終的に図36Cに示すように、溶液421'は平坦部全体を覆い、低抵抗n型シリコン層のアイランド428aにおいて結晶化が促進される。このように結晶化を行なうべき母液の周囲にV溝を形成することで、結晶化を行なうべき領域における対流を抑制することが期待できる。すなわち、溶液の供給時に対流はV溝内で主に発生し、結晶化を行なう平坦部では対流が緩和されと考えられる。

以上、高抵抗n型シリコン上に、低抵抗n型シリコンの領域を形成する例を示したが、たとえばp型シリコン上にn型シリコン層のアイランドを形成した場合も、同様の効果を期待することができる。また、結晶化すべき物質の荷電状態に応じて、シリコンの導電型および抵抗値を適宜選択すればよい。

貫通孔を有する装置において、第2溶液貯留部としての反応セルの表面には、上述したように複数の溝または不純物元素が添加されたアイランドを形成するこ

とができる。複数種のサイズの溝またはアイランドを1つの反応セルに作製しておいてもよい。基板表面に形成される溝のサイズおよび深さ、ならびにアイランドのサイズは、結晶化すべき高分子化合物の種類によって適宜変更することが望ましい。一般的に、溝またはアイランドの幅は $0.01 \sim 100 \mu\text{m}$ の範囲とすることができる。溝の長さはたとえば $0.1 \sim 10 \text{ mm}$ の範囲とすることができる。また溝またはアイランドは、 $1 \mu\text{m} \sim 1 \text{ mm}$ の範囲の間隔で複数作製することができる。サイズの異なるアイランドおよび溝を多数形成しておけば、結晶化により好ましい領域を提供できる可能性が高くなる。また溝の深さは、 $0.01 \sim 200 \mu\text{m}$ の範囲で調整することができる。なおこれらのサイズは、主として装置の製造上好ましい範囲であるが、これらの範囲以外であっても、装置の性能、すなわち結晶化に決定的な悪影響を及ぼすものではない。

貫通孔を有する基板の表面に形成される第2溶液貯留部としての反応セルのサイズは、用いられる溶液の量によって決定されるべきである。一般に反応セルのサイズは、 $0.1 \sim 10 \text{ mm}$ 角程度が好ましい。また、基板表面をエッチングすることによって孔または窪みを有する反応セルを形成する場合には、孔または窪みの深さは、 $0.01 \sim 500 \mu\text{m}$ 程度の範囲が好ましい。

流路は、基板自体または基板表面に形成された酸化膜等の膜をエッチングすることによって形成することができる。溝の幅は、たとえば $0.01 \sim 10000 \mu\text{m}$ の範囲とすることができる。溝の長さは $0.1 \sim 100 \text{ mm}$ の範囲で作製することが好ましい。また、 $0.01 \sim 10000 \mu\text{m}$ の範囲の間隔で複数の溝を作製することが好ましい。さらに溝の深さは、 $0.01 \sim 200 \mu\text{m}$ の範囲で調整することが好ましい。これらの範囲のサイズをそれぞれ有する複数の溝によって、流路を構成することができる。複数の溝によって構成される流路全体の幅は、 $1 \mu\text{m} \sim 10 \text{ mm}$ の範囲とすることができる。

貫通孔を有する装置において、シリコン基板等の固体素子表面は、溶液貯留部および流路を取囲むように撥水性の層を有することが好ましい。この層は、溶液を保持する際に、溶液が周囲に流出するのを効果的に防止することができる。たとえば表面の酸化膜が除去されたシリコン表面は、一般に酸、アルカリのみを含む水や純水に対して十分に撥水性であるが、緩衝溶液のような塩を含有する水溶

液に対して撥水性は低下する。したがって、緩衝溶液を用いる場合、シリコン基板の周囲に撥水性の物質からなる層を形成する方がよい。撥水性の層は、たとえば有機系の樹脂によって形成することができ、レジスト樹脂、ポリイミド樹脂は最も簡便に撥水性の層を形成できる材料の例である。ポリイミドからなる撥水性の層を形成する場合、たとえば感光性または非感光性のポリイミド樹脂をコーティングし、硬化させた後、所望のパターンとなるようエッチングまたは現像により不要な部分を除去することができる。本発明で用いられる撥水層の厚みは機能的に特に限定する必要はないが、 $0.1 \sim 100 \mu\text{m}$ の範囲の厚みのものが比較的作製しやすい。また、撥水性を示しかつ溶液中で化学的に安定であれば、種々の材料をこの層のために用いることができる。

基板に形成される貫通孔は、たとえばエッチングによって形成することができる。たとえばシリコン結晶基板を用いる場合、異方性エッチングまたはドライエッチングにより形成が可能である。貫通孔のサイズは、溶液貯留部に保持される溶液の周期的な変動に影響を及ぼす。したがって、貫通孔のサイズは、所望の変動が生じるよう設定される。通常、貫通孔の径は $1.0 \mu\text{m} \sim 5 \text{mm}$ の範囲であることが望ましく、 $10 \mu\text{m} \sim 1 \text{mm}$ の範囲がさらに好ましい。各貯留部に形成される貫通孔の数は、特に限定されるものではない。

本発明の装置に形成することのできる加熱用電極および温度測定用電極は、金属抵抗体からなる薄膜をパターンニングすることによって容易に作製することができる。金属抵抗体の材質として、主にCr、Ti、NiCr等を用いることができる。これらはスパッタリング等によって基板に堆積することができ、その後、通常の方法によってパターンニングすることにより所望の特性を有する電極を得ることができる。なお、シリコン基板を加熱する場合、発熱体近傍において $30 \sim 100^\circ\text{C}$ の温度範囲が好ましく、 $40 \sim 80^\circ\text{C}$ の範囲がより好ましい。

本発明は、種々の高分子化合物、特に高分子電解質を結晶化するために用いることができる。本発明は特に、酵素および膜蛋白質等の蛋白質、ポリペプチド、ペプチド、ポリサッカライド、核酸、ならびにこれらの複合体および誘導体等を結晶化させるため好ましく適用される。本発明は、生体高分子の結晶化のため好ましく適用される。また、本発明は、生体内または生体外において蛋白質、酵素、

核酸を始めとする種々の生体高分子の捕捉、精製、合成等を行なうためのマイクロ・リアクター装置に応用することができる。本発明の装置は、上述した技術によって、微細化および集積化が可能である。

例 1

- 5 ニワトリ卵白製リゾチーム (Lysozyme, From Chicken Egg White) を $pH=4.5$ の標準緩衝溶液で溶解し、 50 mg/ml の濃度とした。この溶液について、以下に示す2種類のシリコン結晶を用い結晶化を行なった。

(1) サンプル 1

- 約 $30\ \Omega\text{ cm}$ の比抵抗の n 型シリコン基板表面に、リン元素のイオン注入によ
10 って低抵抗の n 型シリコン層 (比抵抗: 約 $0.01\ \Omega\text{ cm}$ 、厚み: 約 $0.5\ \mu\text{m}$) を全面的に形成した。その後、表面に熱酸化によって 200° の酸化シリコン層を形成した。次に、その表面に図2に示すような構成で、溶液貯留部、流路、電極パターンおよびパッドを形成した。これらは、LSIの製造プロセスに通常
15 用いられるフォトリソグラフィ法およびエッチング技術等を用いて形成することができた。図2に示す溶液貯留部12a、12bおよび12cは、 $3\text{ mm} \times 5\text{ mm}$ のサイズとし、溶液貯留部12dは $3\text{ mm} \times 10\text{ mm}$ のサイズとした。各溶液貯留部にはシリコンの異方性エッチングによってV溝を形成した。V溝の深さはすべて $200\ \mu\text{m}$ であった。一方、図2に示す結晶成長用の溶液貯留部14は、
20 すべてが $0.2\text{ mm} \times 0.2\text{ mm}$ のサイズであった。これらについても、エッチングによりV溝を形成した。溝の深さは約 $5\ \mu\text{m}$ であった。各溶液貯留部を相互に連結する流路は、V溝の形状とした。図2に示す流路の中で、図面に向かって上下方向に配置される流路は幅および深さが $50\ \mu\text{m}$ のV溝であった。図面に向
25 かって左右方向に配置される流路は、幅および深さが $100\ \mu\text{m}$ のV溝であった。また、互いに斜めの位置にある結晶成長用の溶液貯留部を繋ぐ流路は、幅および深さが $20\ \mu\text{m}$ のV溝とした。V溝はすべてシリコン表面の異方性エッチングにより形成した。

図2に示す加熱用电極18および28は、シリコン酸化膜の上にCr薄膜を形成し、パターニングすることによって得られた。その膜厚は $0.2\ \mu\text{m}$ であった。また、パッド21および31として、Cr薄膜上に $1\ \mu\text{m}$ の厚みのAl層を形成

した。シリコン基板の裏面には、シリコン酸化膜を除去した後、Ti、NiおよびAuの薄膜を連続的にそれぞれ $0.05\mu\text{m}$ 、 $0.2\mu\text{m}$ 、 $0.2\mu\text{m}$ の厚みで形成することにより、図3に示すような裏面電極を作製した。その後、シリコン基板表面に感光性ポリイミドを塗布し、ホトリソグラフィーを用いてパターンニングを行ない、溶液貯留部および流路以外の表面に厚み $10\mu\text{m}$ のポリイミド層を形成した。得られた構造物を結晶化のための固体素子に用いた。

(2) サンプルー 2

サンプルー 1 と同様の方法でイオン注入を行ない、n型シリコン基板上に低抵抗のn型シリコン層を作製した。比抵抗およびn型層の厚みはサンプルー 1 と同一である。その後、V溝を形成せずに、そのまま結晶化のための固体素子として用いた。

図11に示すような装置において結晶化の実験を行なった。サンプルー 1 のシリコン基板を、直径が約 40mm の蓋付のセルプレート内にV溝を形成した表面が上となるよう保持した。セルプレートの底部にはpH4.5の緩衝溶液を約 5ml 注入した。シリコン基板を保持するセルプレートを 10°C の冷暗所内に静置した後、図2に示す溶液貯留部12dに上述したリゾチームの溶液を溢れないように滴下した。さらに溶液貯留部12aおよび12cにpH4.5の緩衝溶液、溶液貯留部12bに 1.0M のNaCl水溶液をそれぞれ溢れないように滴下した。その後、セルプレートの蓋を閉め、加熱用電極に電流を流し、各溶液の温度が 50°C 付近に上昇するまで加熱した。各溶液が流路を伝わって結晶成長用の貯留部に到達し始めたら加熱を中止した。外部から裏面電極を介して $+1.0\text{V}$ の電圧を印加した場合と、電圧を印加せずにフローティング状態にした場合の2種類のケースについて結晶化の実験を行なった。電圧の印加を行なう場合、加熱により各溶液が流路を伝わって結晶成長用の貯留部に到達した後、電圧の印加を開始し、その後連続して電圧の印加を行なった。

サンプルー 2 のシリコン基板については、そのまま底部にpH4.5の緩衝溶液を保持したセルプレート内に収容した。次いで、シリコン基板上にサンプルー 1 の場合と同様のリゾチーム溶液を滴下し、直径が約 10mm の液滴を形成した。さらに、シリコン基板上でこの液滴から約 5mm 離れた所に、 1.0M のNaCl

1 水溶液と pH 4.5 の緩衝溶液を 1 : 1 の体積比で混合した溶液を滴下し、約
10 mm の直径の液滴を同様に形成した。その後、針で一方の液滴から他方の液
滴に線を描くようにして液滴間に細い流路を形成し、それらを連結した。セルブ
レーートの蓋を閉め、シリコン基板を 10℃ の冷暗所内に保管した。

5 サンプル 1 および サンプル 2 のシリコン基板をそれぞれ冷暗所に 50 時間
保管した後、それぞれのサンプルを取出して顕微鏡によりリゾチームの結晶を観
察した。その結果を図 37、38 および 39 に示す。また、図 37、38 および
39 に示す結晶の形態および状態を図 40、41 および 42 にそれぞれ模式的に
示す。サンプル 1 のシリコン基板上では、電圧の印加を行なわない場合でも、
10 図 37 および 40 に示すように比較的大型でかつよく成長した結晶が溶液貯留部
の V 溝上に得られた。得られた結晶は、結晶面について結晶性がよく、単結晶の
状態のものであった。さらに電圧の印加を行なった場合、図 38 および 41 に示
すように溶液貯留部の V 溝上にさらに大型で結晶性の良好な結晶が得られた。一
方、サンプル 2 のシリコン基板上では、図 39 および 42 に示すように約 1 m
15 m 程度の大型の結晶が成長したが、いずれも双晶であつたり、成長した結晶の表
面状態が悪く、それほど良好な結晶が得られなかった。この結果から、本発明に
よれば、微量な試料であっても大型の品質のよい単結晶を作製できることがわか
る。

例 2

20 ニワトリ卵白製リゾチーム (Lysozyme, from Chicken Egg White) を pH 4.5
の標準緩衝溶液に溶解し、30 mg/ml の濃度とした。シリコン結晶よりなる
2 種類の装置において結晶化を行なった。

(1) サンプル 1

25 約 30 $\Omega \cdot \text{cm}$ の比抵抗の n 型シリコン基板の表面に、リン元素のイオン注入
を行なった後アニールを施して低抵抗の p 型シリコン層 (比抵抗 : 約 0.01
 $\Omega \cdot \text{cm}$ 、厚み : 約 5 μm) を全面的に形成した。その後、表面に熱酸化によつ
て酸化シリコン層を 200 nm の厚みで形成した。次いで、図 43 に示すような
2 つの溶液セル、3 つの反応セル、3 つの廃液用セルが流路で結ばれた構造をシ
リコン基板の表面に形成した。シリコン基板 500 上において、溶液セル 500

a および 500 b は適当な間隔を空けて配置されている。反応セル 504 a、504 b および 504 c は横方向に 1 列に配列されている。溶液セル 500 a と各反応セルとは流路 502 a、502 c および 502 e により連結される。溶液セル 500 b と各反応セルとは流路 502 b、502 d および 502 f でそれぞれ連結される。これらの流路は図 13～図 15 C に示すような構造を有している。各反応セルに対して廃液用セル 508 a、508 b および 508 c が設けられている。各反応セルと各廃液用セルとは、流路 506 a、506 b および 506 c でそれぞれ連結される。これらの流路は基板 500 上に形成された V 溝である。

結晶化のための装置（マイクロ・リアクター）全体のサイズは 30 mm 角であった。溶液セル 500 a および 500 b のサイズは 3 mm × 20 mm であった。このサイズの領域の周囲に、幅約 10 μ m の V 溝をエッチングによって形成することにより、この領域を他の領域から仕切って溶液セルを形成した。3 個の反応セルのサイズは 2 mm × 5 mm とした。各反応セルにおいて、2 mm × 5 mm の領域の周辺部に深さが 40 μ m、幅が 200 μ m の V 溝を設けた。V 溝はエッチングにより形成した。さらに 2 mm × 5 mm の平坦な領域を 10 μ m の深さで異方性エッチングするとともに、約 1 mm のピッチで表面に約 0.2 mm の幅を有する薄い p 型層の領域を残すよう加工を行なった。このようにして、内側の平坦な領域に分子の凝集および結晶化に関して空間的な選択性を付与した。各反応セルに接続される各廃液用セルのサイズは 2 mm × 5 mm であり、深さは 100 μ m であった。

溶液セル 500 a および 500 b から 3 個の反応セル 504 a、504 b および 504 c までの流路の長さは、それぞれ 5 mm、10 mm、20 mm であった。流路の幅はすべて 1 mm であった。1 mm の幅を有する流路は、すべてシリコンの異方性エッチングによって形成された V 溝で構成される。図 13～図 15 C に示すような構造において、流路全長の 3 分の 1 ごとに溝の幅および深さを変えていった。流路の最初の 3 分の 1 では、溝の幅と溝の間隔との比 (L/S) は 1 であった。次の 3 分の 1 では L/S は 1/10 であり、最後の 3 分の 1 では L/S は 1/20 であった。また溝の深さは、流路の最初の 3 分の 1 において 1 μ m、次の 3 分の 1 において 5 μ m、最後の 3 分の 1 において 50 μ m であった。すな

わち、10 mmの長さの流路であれば、最初の3.3 mmの長さにおいて、L/Sは1 μ m/1 μ m、深さは1 μ mであり、次の3.3 μ mの部分においてL/Sは5 μ m/50 μ m、深さは5 μ mであり、最後の3.3 mmの部分においてL/Sは50 μ m/1000 μ m、深さは50 μ mであった。

- 5 また3個の廃液用セルは長さが2 mmの流路により各反応セルと接続された。各流路の幅は1 mmであった。流路を形成するV溝のサイズに関し、L/Sは100 μ m/200 μ mであり、深さは約100 μ mであった。

10 溝部を形成した後、シリコン基板表面に感光性ポリイミドを塗布し、フォトリソグラフィによって、各セルおよび流路以外の表面に10 μ mの厚みを有するポリイミド層を形成した。

(2) サンプルー2

3つの廃液用セルおよびそれに通じる流路を形成しなかった以外は、サンプルー1と同様にしてマイクロ・リアクターを作製した。

15 以上のようにして得られたサンプルー1および2を、直径が約50 mmの蓋付セルプレート内に、微細加工を施した表面が上となるように入れた。なお、セルプレートの底部には予めpH 4.5の緩衝溶液を約5 ml滴下しておいた。その後、サンプル1および2の3つの反応セル内に前述のリゾチームの溶液をそれぞれ500 μ m滴下し、さらに溶液セル100 aにpH 4.5の緩衝溶液を約1 ml、溶液セル100 bに0.1 Mの塩化ナトリウム水溶液を1 ml、液滴が溢れないよう滴下した。

20 次にセルプレートの蓋を閉め、装置を10℃の冷暗所内に静置した。サンプルを冷暗所に72時間保管した後、サンプルを取り出して基板上のリゾチームの結晶を顕微鏡によって観察した。その結果を図44および45に示す。図44に示すように、サンプルー1上では、反応セル内のp型シリコン層の領域に約1 mmのサイズを有する結晶面の平滑な大型の単結晶が得られた。またエッチングにより露出したn型シリコン層の領域には結晶の成長が全く起こっていなかった。したがって本発明の装置が結晶化に有効であることが明らかになった。

25 一方、サンプルー2上では、図45に示すように、反応セル内のp型シリコン層の領域に比較的大きなサイズの結晶が得られた。しかしながら、得られた結晶

のほとんどは双晶となっていた。また、n型シリコン層の領域にまで結晶が析出していることが認められた。この結果は、サンプルー 2 上において常に反応セル内に溶液セルより緩衝溶液および沈殿剤が供給され、液が排出されないため、反応セル内で過剰な結晶核が生成し、さらにこれらの核がセル内で浮遊して種々の箇所で結晶成長が進行したものと考えられた。サンプルー 1 のように反応セルから溶液を排出させて濃度のバランスを保つことにより、品質のよい結晶が得られることがわかった。

以上に示すように、サンプルー 1 に示すような本発明の装置を用いることによって、微量な試料であっても大型の品質のよい単結晶を調製することが可能である。

例 3

マッコウクジラ由来のミオグロビンを p H 7.2 のリン酸緩衝液に溶解し、20 mg/ml の濃度とした。この溶液について、シリコン結晶よりなる 2 種類の装置において結晶化を行なった。

(1) サンプルー 1

約 $20 \Omega \cdot \text{cm}$ の比抵抗の n 型シリコン基板の表面に、リン元素のイオン注入を行なった後アニールを施して低抵抗の n 型シリコン層（比抵抗：約 $0.01 \Omega \cdot \text{cm}$ 、厚み：約 $3 \mu\text{m}$ ）を全面的に形成した。その後、表面に熱酸化によって酸化シリコン層を 200 nm の厚みで形成した。次いで、図 24 に示すような配置で、基板表面に 3 対の溶液セル、3 個の上部反応セル、3 対の流路、加熱用電極および温度測定用電極を形成し、基板の裏面に 3 個の下部反応セルを形成した。シリコン基板のサイズは、 30 mm 角であり、その表面に形成される凹状の溶液セルのサイズは 5 mm 角であった。また、シリコン基板の表面と裏面にそれぞれ形成される反応セルのサイズは共に 3 mm 角とした。上部反応セルのそれぞれには、周辺部に深さが $40 \mu\text{m}$ 、幅が $200 \mu\text{m}$ の V 溝を設けた。V 溝はエッチングにより形成した。さらに、その内側の平坦な領域を $50 \mu\text{m}$ の深さで異方性エッチングし、表面に約 0.2 mm 幅の薄い低抵抗 n 型層の領域を 0.5 mm のピッチで残した。このような加工により、内側の平坦な領域に分子の凝集および結晶化に関して空間的な選択性を付与した。

基板表面における溶液セルから反応セルまでの流路の長さは、5 mmとし、流路の幅はすべて3 mmとした。流路は、すべて酸化シリコンを加工することによって得られた複数の溝から構成された。溝を構成する壁は、酸化シリコン層を所定のパターンでエッチングすることによって形成した。図13に示すような構造において、流路全長の3分の1毎に溝の幅を変えていった。流路の最初の3分の1では、溝の幅は1 μ mであり、次の3分の1では5 μ m、最後の3分の1では50 μ mであった。また、溝の幅と溝の間隔との比(L/S)は流路の最初の3分の1において1:1、次の3分の1において1:10、最後の3分の1において1:20であった。すなわち、5 mmの長さの流路において、最初の1.67 mmの長さの部分はL/Sが1 μ m/1 μ mであり、次の1.67 μ mの部分はL/Sが5 μ m/50 μ mであり、最後の1.67 μ mの部分はL/Sが50 μ m/1000 μ mであった。

次いで、基板にブラスト処理により貫通孔を形成した。基板の表面に形成される3つの反応セルにおいて、直径の異なる貫通孔を異なるピッチで形成した。3つの反応セルのうち第1のセルにおいては直径0.1 mmの貫通孔を0.2 mmのピッチ(間隔)で複数形成した。第2のセルにおいては、直径が0.3 mmの貫通孔を0.5 mmのピッチで複数形成した。第3のセルにおいては、直径が0.6 mmの貫通孔を0.8 mmのピッチで複数形成した。

次に、シリコン基板の表面に0.3 μ mの厚みでCr膜を形成した後、パターニングを行なって、100 μ m幅の発熱体および2 μ m幅の測温体を基板の端部に形成した。なお、Cr薄膜のパッド上には、Alを約1 μ mの厚みで堆積した。次いで、シリコン基板表面に感光性ポリイミドを塗布し、フォトリソグラフィによってパターニングを行ない、各セルおよび流路以外の表面に10 μ mの厚みのポリイミド層を形成した。

(2) サンプル2

サンプル1と、同様の方法で装置を作製したが、サンプル2においては貫通孔を形成しなかった。すなわち、サンプル2の装置において表面および裏面にそれぞれ形成された反応セルはつながっていない。

以上のように作製したサンプル1およびサンプル2の装置(マイクロリア

クタ) を図 27 に示すように、それぞれ直径が約 50 mm の蓋付きセルプレート内に保持した。セルプレートの底部には、pH 7.2 の緩衝溶液を約 5 ml 滴下した。次いで、サンプルー 1 およびサンプルー 2 の 3 つの反応セルにそれぞれ上述したミオグロビン溶液を 500 μ l 滴下し、さらにそれぞれの反応セルにつながる一方の溶液セルに pH 7.2 の緩衝溶液を約 1 ml、他方の溶液セルに 0.2 mol の塩化ナトリウム水溶液を 1 ml、液滴がこぼれないよう滴下した。その後、セルプレートの蓋を閉め、装置を 10 °C の冷暗所内に静置するとともに、シリコン基板上の発熱体に通電し、発熱体近傍の温度を約 45 °C まで上昇させた。それぞれのサンプルを冷暗所に 72 時間保管した後、試料を取り出して顕微鏡によりミオグロビンの結晶化状態を観察した。その結果を以下に示す。

サンプルー 1 の第 1 の反応セルにおいては、主に低抵抗 n 型領域に、約 0.1 mm の微小なサイズの結晶が大量に析出した。双晶の状態のものも存在した。サンプルー 1 の第 2 の反応セルにおいては、低抵抗 n 型領域に、約 0.8 mm の大型のサイズの表面が平滑な単結晶が得られた。一方、高抵抗 n 型シリコンの領域には結晶成長が全く起こっていなかった。サンプルー 1 の第 3 の反応セルにおいては、第 1 の反応セルと同様な微小な結晶が大量に析出した。以上の結果より、サンプルー 1 の装置において第 2 の反応セルが結晶化により有効であることが明らかになった。

一方、サンプルー 2 の装置では、反応セルにおける低抵抗 n 型層の領域に比較的大きなサイズの結晶が得られたが、双晶が多かった。このことは、サンプルー 2 の反応セルでは、絶えず供給される緩衝溶液および沈澱剤によって過剰な結晶核が生成しやすく、さらに乱流が発生しやすいため、生成した核が反応セル内を浮遊し、種々の場所で結晶成長が進行することを示唆している。サンプルー 1 における結果が示すように、本発明に従う装置を用いることによって、微量な試料であっても大型の品質のよい単結晶を調製することが可能になる。

なお、上記実施例では、基板の上面に形成される反応セルに価電子が制御された領域、すなわち低抵抗 n 型領域を所定のパターンで配置したが、そのような領域を基板下面の反応セルのみに形成してもよいし、上面および下面の両方の反応セルにそのような領域を形成してもよい。

産業上の利用の可能性

以上説明したように、本発明によれば、上述したように多様な特性を有するためどの物質に対しても適用できる手法がなく試行錯誤を繰返しながらい進められてきた従来の結晶化プロセスの欠点を解決することかできる。特に本発明によれば、
5 重力による溶液の対流の影響を抑制し、結晶化の初期過程における核の形成を安定して行なわせることができる。また本発明によれば、微結晶の大量生成を抑制または制御することができ、X線構造解析を可能にし得る大型の結晶を得ることができる。さらに本発明によれば、1つの基板上で微量な溶液について多数の異なる結晶化のための条件を調製することができる。これにより、特定の分子について結晶化のための最適な条件を作り出すことができる。また本発明において、
10 電圧の印加により基板の表面に、分子の凝集および結晶化のためより適切な電気的狀態をもたらすことができる。電圧の印加によって、結晶の成長を促進させることができる。さらに、本発明によれば、溝部において溶液の対流の影響を抑制し、結晶の成長を安定して行なわせることができる。本発明は、試料が微量であ
15 っても、大型の結晶を成長させるためより適切な条件を短時間のうちに作り出すことが可能である。

本発明は、製薬産業や食品産業等において、有用な物質、特に蛋白質、核酸等の生体高分子の研究、開発および製造に適用される。本発明によれば、X線構造解析を可能にする結晶性の良好な結晶を成長させることができる。結晶解析の結果、その分子構造および活性のメカニズムについて得られる情報は、薬剤の設計
20 および製造に生かされる。また、本発明は、関心のある分子の精製または結晶化に適用される。さらに、本発明は、蛋白質等の生体高分子を用いた電子デバイスの作製に応用が期待される。また本発明の装置は、生体高分子等を選択的に吸着および固定化することが可能なため、バイオセンサ、バイオセンサによる各種生
25 体組織および生体物質の測定装置への応用等が可能である。

今回開示された実施の形態はすべての点で例示であって制限的なものではないと考えられるべきである。本発明の範囲は上述した説明ではなく、請求の範囲によって示され、請求の範囲と均等の意味および範囲内でのすべての変更が含まれることが意図される。

請求の範囲

1. 溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させるために用いる装置であつて、

5 前記高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御された基板からなり、

前記基板の表面は、

2 種類以上の溶液をそれぞれ保持するための複数の第 1 溶液貯留部と、

前記結晶を成長させるため前記高分子化合物を含む溶液を滞留させる複数の第 2 溶液貯留部と、

10 前記複数の第 1 溶液貯留部と前記複数の第 2 溶液貯留部とを連結し、溶液の流通を可能にする複数の流路とを有し、

少なくとも前記第 2 溶液貯留部において、前記高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御されていることを特徴とする、結晶成長用装置。

15 2. 前記第 1 溶液貯留部の溶液を加熱するための手段をさらに有することを特徴とする、請求項 1 の結晶成長用装置。

3. 少なくとも前記第 2 溶液貯留部に電圧を印加するための電極をさらに有することを特徴とする、請求項 1 または 2 の結晶成長用装置。

20 4. 前記複数の流路において、それらの幅および／または深さが異なっていることを特徴とする、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項の結晶成長用装置。

5. 前記基板の表面において、前記第 2 溶液貯留部の特定領域で前記高分子化合物の結晶核の形成および結晶の成長が促進され、かつその他の領域で前記結晶核の形成が抑制されるよう、前記価電子が制御されていることを特徴とする、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項の結晶成長用装置。

25 6. 前記基板は不純物が添加された半導体基板からなり、前記価電子制御は、前記不純物の濃度および／または種類の制御によりなされていることを特徴とする、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項の結晶成長用装置。

7. 前記半導体基板がシリコン結晶からなることを特徴とする、請求項 6 の結晶成長用装置。

8. 前記第2溶液貯留部に溝または孔が形成されていることを特徴とする、請求項6または7の結晶成長用装置。

9. 前記溝または孔の内と外とで前記不純物の濃度および／または種類が異なっていることを特徴とする、請求項6～8のいずれか1項の結晶成長用装置。

5 10. 溶液と接触すべき表面に酸化物からなる被膜をさらに有することを特徴とする、請求項1～8のいずれか1項の結晶成長用装置。

11. 請求項1～10のいずれか1項の結晶成長用装置と、
沈殿剤または緩衝溶液とともに前記装置を密封状態で収容できる容器と、
前記容器内において前記装置を支持するための手段とを備える、結晶成長用装置。

10 12. 溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させる方法であって、
請求項1～10のいずれか1項の結晶成長用装置を与える工程と、
前記複数の第1溶液貯留部に前記高分子化合物を含む第1の溶液およびそれと異なる第2の溶液をそれぞれ保持させる工程と、

15 前記第1の溶液および前記第2の溶液を前記複数の流路を介して前記複数の第2溶液貯留部に移行させ、前記複数の第2溶液貯留部において前記第1の溶液と前記第2の溶液とが異なる比率で混合された複数の混合液をそれぞれ貯留させる工程と、

20 前記複数の混合液をそれぞれ貯留する前記複数の第2溶液貯留部において、前記制御された価電子により前記基板の表面にもたらされる電気的狀態の下、前記高分子化合物の結晶を成長させる工程とを備える、結晶成長方法。

13. 前記第1溶液貯留部の溶液を加熱する工程をさらに備え、それにより、前記第1溶液貯留部からの前記流路を介する溶液の移行が促進されることを特徴とする、請求項12の結晶成長方法。

25 14. 前記装置の少なくとも前記第2溶液貯留部に電圧を印加する工程をさらに備え、それにより前記固体素子の表面にもたらされる電気的狀態が制御されることを特徴とする、請求項12または13の結晶成長方法。

15. 前記第2溶液貯留部に溝または孔が形成されており、前記溝または孔により、対流が抑制され、かつ／または前記高分子化合物の結晶化が促進されること

を特徴とする、請求項 12～14 のいずれか 1 項の結晶成長方法。

16. 前記第 2 の溶液が、前記第 1 の溶液の pH および／または塩濃度を変化させるための緩衝溶液および／または塩溶液であることを特徴とする、請求項 12～15 のいずれか 1 項の結晶成長方法。

5 17. 溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させるための装置であって、
前記高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御された基板を備え、

前記基板の表面は、

2 種類以上の溶液をそれぞれ保持するための複数の第 1 溶液貯留部と、

10 前記複数の第 1 溶液貯留部からそれぞれ溶液を排出させて 1 方向に流すための
複数の第 1 流路と、

前記複数の第 1 流路によりそれぞれ送られる前記 2 種類以上の溶液を同時に受
入れる第 2 溶液貯留部と、

前記第 2 溶液貯留部から溶液を排出させて 1 方向に流すための第 2 流路と、

15 前記第 2 流路により送られる溶液を受入れる第 3 溶液貯留部とを備え、

少なくとも前記第 2 溶液貯留部において、前記高分子化合物を含む溶液の環境
に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御されて
いることを特徴とする、結晶成長用装置。

18. 前記基板を加熱するための手段をさらに備えることを特徴とする、請求項
20 17 の結晶成長用装置。

19. 少なくとも前記第 2 溶液貯留部に電圧を印加するための電極をさらに有す
ることを特徴とする、請求項 17 または 18 の結晶成長用装置。

20. 前記第 1 流路および／または第 2 流路は、前記基板上に形成された溝であ
り、かつ前記溝は前記溶液を 1 方向に流すため階段状であるかまたは勾配を有す
25 るものであることを特徴とする、請求項 17～19 のいずれか 1 項の結晶成長用
装置。

21. 前記第 1 流路および／または第 2 流路は、前記基板上に形成された幅およ
び深さの異なる複数の溝から構成されており、上流から下流にいくに従って、前
記溝の幅は広がりかつ前記溝は深くなっていることを特徴とする、請求項 17～

20のいずれか1項の結晶成長用装置。

22. 同種類の溶液を運ぶ複数の前記第1流路のうち、前記第2溶液貯留部の1つに向かう前記第1流路の長さおよび／または幅が、前記第2溶液貯留部の他の1つに向かう前記第1流路と異なっており、それにより、前記第2溶液貯留部の1つは前記他の1つと異なる流速で前記第1溶液貯留部から溶液を受入れることを特徴とする、請求項17～21のいずれか1項の結晶成長用装置。

23. 前記基板の表面において、前記第2溶液貯留部の特定領域で前記高分子化合物の結晶核の形成および結晶の成長が促進され、かつその他の領域で前記結晶核の形成が抑制されるよう、前記価電子が制御されていることを特徴とする、請求項17～22のいずれか1項の結晶成長用装置。

24. 前記基板が不純物添加された半導体基板からなり、前記価電子制御は不純物の濃度および／または種類の制御によりなされていることを特徴とする、請求項17～23のいずれか1項の結晶成長用装置。

25. 前記半導体基板がシリコン結晶からなることを特徴とする、請求項24の結晶成長用装置。

26. 前記第2溶液貯留部に溝または孔が形成されていることを特徴とする、請求項17～25のいずれか1項の結晶成長用装置。

27. 溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させる方法であって、請求項17～26のいずれか1項の結晶成長用装置を与える工程と、

20 前記複数の第1溶液貯留部に前記高分子化合物を含む第1の溶液およびそれと異なる第2の溶液をそれぞれ保持させる工程と、

前記第1の溶液および前記第2の溶液を前記複数の第1流路を介して前記第2溶液貯留部に移行させ、前記第2溶液貯留部において前記第1の溶液と前記第2の溶液とを混合する工程と、

25 得られた混合液を前記第2流路を介して前記第2溶液貯留部から前記第3溶液貯留部へ導きながら、前記混合液を貯留する前記第2溶液貯留部において、前記制御された価電子により前記装置の表面にもたらされる電気的狀態の下、前記高分子化合物の結晶を成長させる工程とを備える、結晶成長方法。

28. 前記装置は、複数の前記第2溶液貯留部およびサイズの異なる複数の第1

流路を有しており、

前記複数の第 2 溶液貯留部において、前記第 1 の溶液と前記第 2 の溶液とが異なる比率で混合された複数の混合液をそれぞれ貯留させることを特徴とする、請求項 27 の結晶成長方法。

5 29. 前記基板を加熱する工程をさらに備える、請求項 27 または 28 の結晶成長方法。

30. 前記第 2 溶液貯留部に電圧を印加する工程をさらに備え、それにより前記装置の表面にもたらされる電氣的状態を制御することを特徴とする、請求項 27 ～ 29 のいずれか 1 項の結晶成長方法。

10 31. 前記第 2 溶液貯留部に溝または孔が形成されており、前記溝または孔により、対流が抑制され、かつ／または結晶の成長が促進されることを特徴とする、請求項 27 ～ 30 のいずれか 1 項の結晶成長方法。

15 32. 前記第 2 の溶液が、前記第 1 の溶液の pH および／または塩濃度を変化させるための緩衝溶液および／または塩溶液であることを特徴とする、請求項 27 ～ 31 のいずれか 1 項の結晶成長方法。

33. 溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させるための装置であって、対向する 1 対の主表面を有し、かつ前記高分子化合物を含む溶液の環境に応じて前記主表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御された基板を備え、

20 前記基板は、

前記 1 対の主表面の一方に設けられた、結晶成長のために用いられる溶液を保持するための第 1 溶液貯留部と、

前記 1 対の主表面の一方に設けられた、前記第 1 溶液貯留部から溶液を排出させて所定の方に流すための流路と、

25 前記 1 対の主表面の一方に設けられた、前記流路より送られる溶液を受入れるための第 2 溶液貯留部と、

前記第 2 溶液貯留部にある溶液を前記 1 対の主表面の他方に導くための貫通孔と、

前記貫通孔を介して送られる溶液を前記 1 対の主表面の他方において受入れる

ための第3溶液貯留部とを備え、

少なくとも前記第2溶液貯留部および／または前記第3溶液貯留部において、前記高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御されていることを特徴とする、結晶成長用装置。

5 34. 前記流路は、前記基板上に形成された幅および／または深さの異なる複数の溝から構成されており、上流から下流にいくに従って、前記溝の幅は広がりかつ／または前記溝は深くなっていることを特徴とする、請求項33の結晶成長用装置。

35. 前記基板は、複数の前記第2溶液貯留部および第3溶液貯留部を備え、か
10 つ

1つの前記第2溶液貯留部と前記第3溶液貯留部とを連絡する前記貫通孔の径が、他の前記第2溶液貯留部と前記第3溶液貯留部とを連絡する前記貫通孔の径と異なっていることを特徴とする、請求項33または34の結晶成長用装置。

36. 前記基板を加熱するための手段をさらに備えることを特徴とする、請求項
15 33～35のいずれか1項の結晶成長用装置。

37. 前記第2溶液貯留部および／または第3溶液貯留部の特定の領域で前記高分子化合物の結晶核の形成および結晶の成長が促進され、かつその他の領域で前記結晶核の形成が抑制されるよう、前記価電子が制御されていることを特徴とする、請求項33～36のいずれか1項の結晶成長用装置。

38. 前記基板は不純物が添加された半導体基板からなり、前記価電子制御は不
20 純物の濃度および／または種類の制御によりなされていることを特徴とする、請求項33～37のいずれか1項の結晶成長用装置。

39. 前記半導体基板がシリコン結晶からなることを特徴とする、請求項38の結晶成長用装置。

25 40. 前記第2溶液貯留部に溝または孔が形成されていることを特徴とする、請求項33～39のいずれか1項の結晶成長用装置。

41. 溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させる方法であって、
請求項33～40のいずれか1項の結晶成長用装置を与える工程と、
前記第1溶液貯留部に前記高分子化合物を含む溶液を保持させる工程と、

前記第 1 溶液貯留部から前記第 2 溶液貯留部に前記流路を介して前記溶液を送る工程と、

前記第 2 溶液貯留部と前記第 3 溶液貯留部との間で、前記溶液を前記貫通孔を介して流通させる工程と、

- 5 前記第 2 溶液貯留部および／または前記第 3 溶液貯留部において、前記制御された価電子により前記装置の表面にもたらされる電氣的狀態の下、前記高分子化合物の結晶を成長させる工程とを備える、結晶成長方法。

4 2. 前記装置は、複数の前記第 1 溶液貯留部、複数の前記第 2 溶液貯留部ならびに長さおよび／または幅の異なる複数の前記流路を有し、

- 10 前記複数の第 1 溶液貯留部に前記高分子化合物を含む第 1 の溶液およびそれと異なる第 2 の溶液をそれぞれ保持させ、

前記第 1 の溶液および前記第 2 の溶液を前記複数の流路を介して前記複数の第 2 溶液貯留部に移行させ、

- 15 前記複数の第 2 溶液貯留部において、前記第 1 の溶液と前記第 2 の溶液とが異なる比率で混合された複数の混合液をそれぞれ貯留させることを特徴とする、請求項 4 1 の結晶成長方法。

4 3. 前記基板を加熱する工程をさらに備える、請求項 4 1 または 4 2 の結晶成長方法。

- 20 4 4. 前記第 2 溶液貯留部に電圧を印加する工程をさらに備え、それにより前記装置の表面にもたらされる電氣的狀態が制御されることを特徴とする、請求項 4 1 ～ 4 3 のいずれか 1 項の結晶成長方法。

4 5. 前記第 2 溶液貯留部に溝または孔が形成されており、前記溝または孔により、対流が抑制され、かつ／または結晶の成長が促進されることを特徴とする、請求項 4 1 ～ 4 4 のいずれか 1 項の結晶成長方法。

- 25 4 6. 前記第 2 の溶液が、前記第 1 溶液の pH および／または塩濃度を変化させるための緩衝溶液および／または塩溶液であることを特徴とする、請求項 4 2 の結晶成長方法。

FIG. 1A

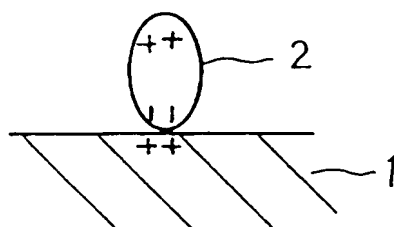


FIG. 1B

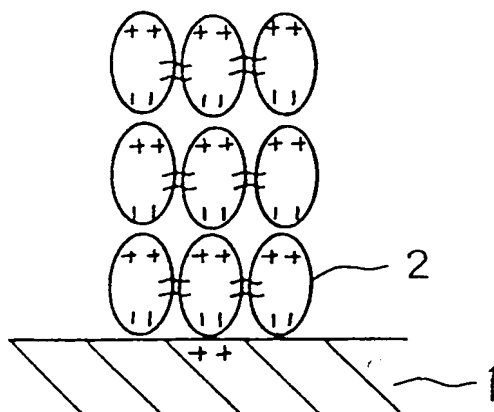


FIG. 2

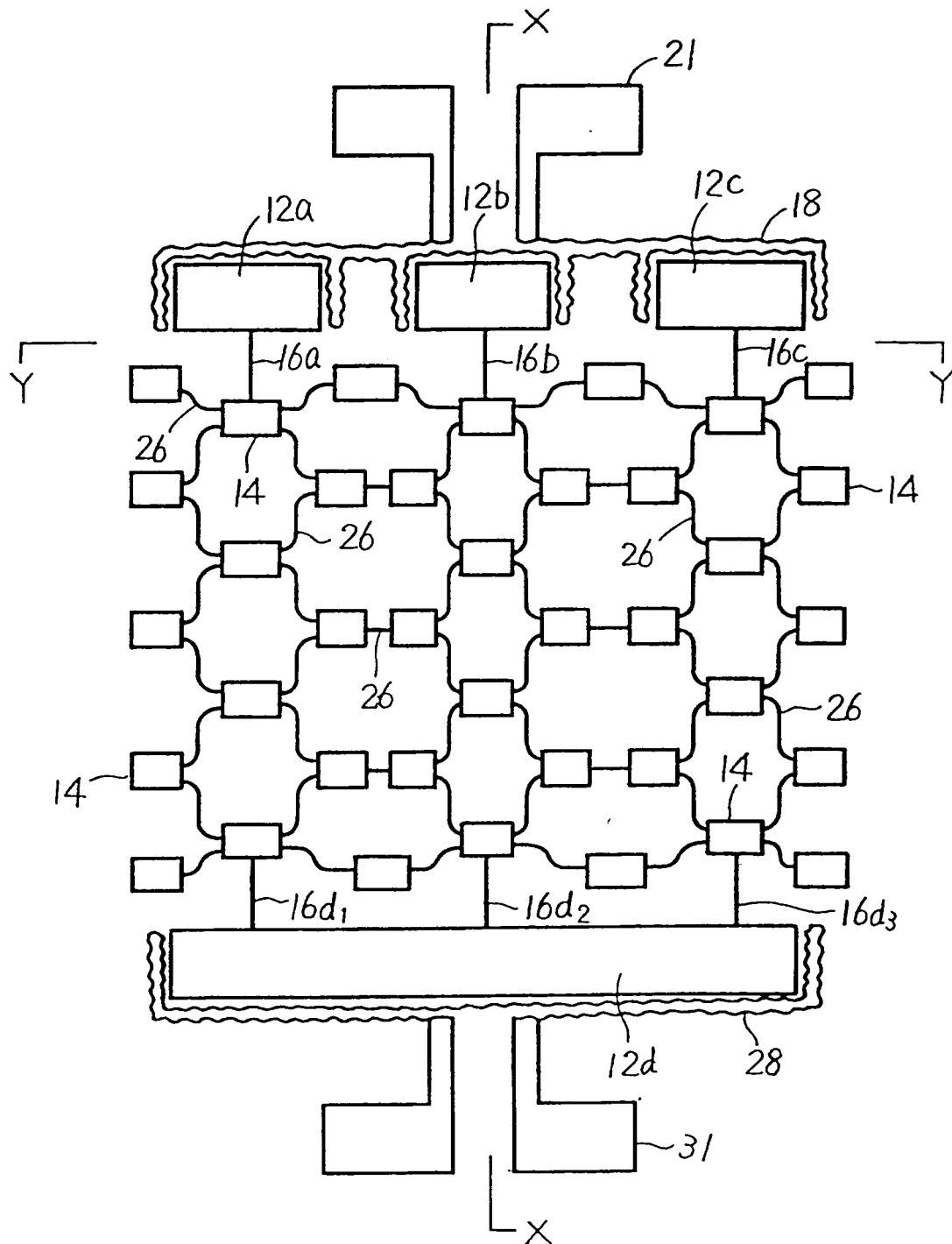


FIG. 3

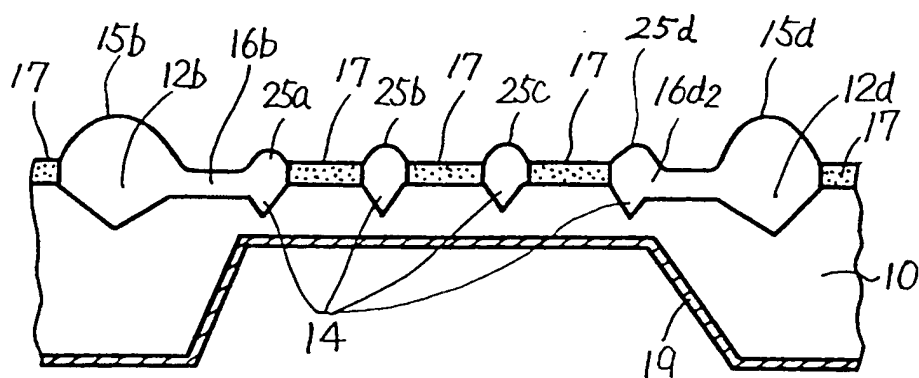


FIG. 4

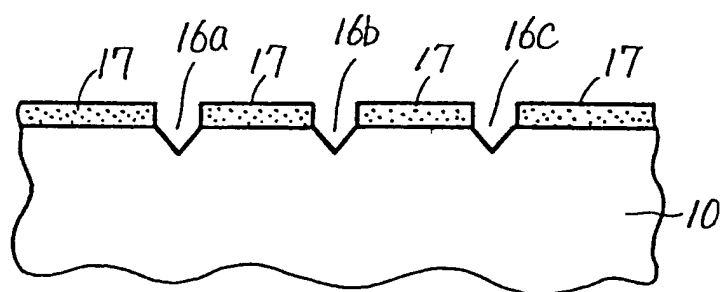


FIG. 5A

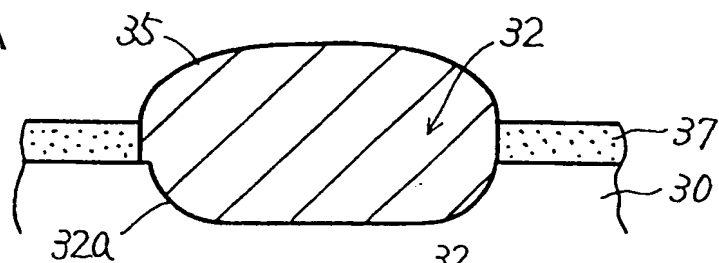


FIG. 5B

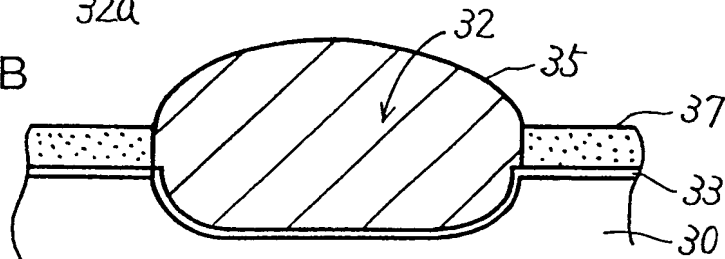


FIG. 5C

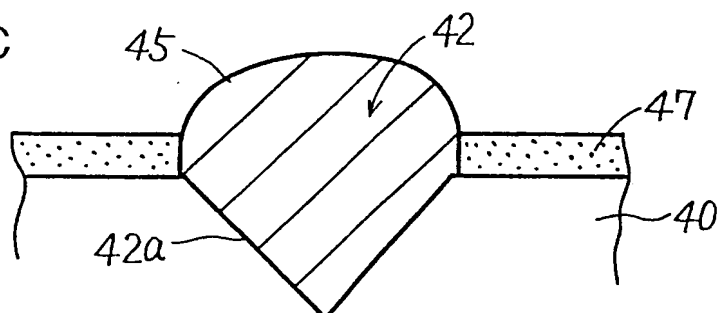


FIG. 5D

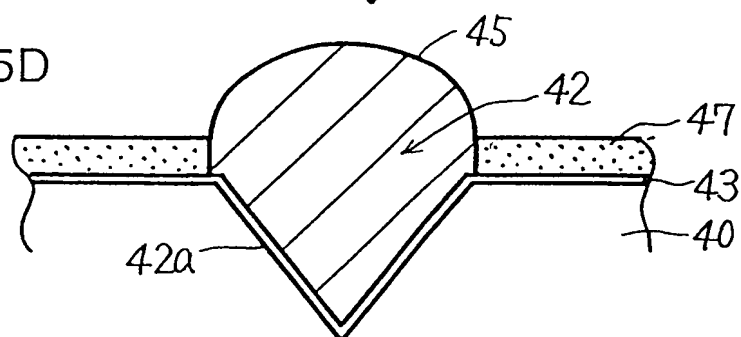


FIG. 5E

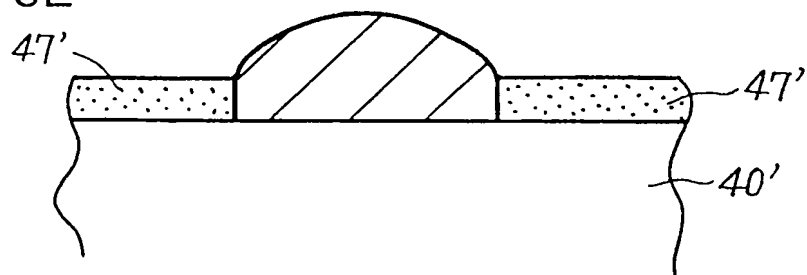


FIG. 6A

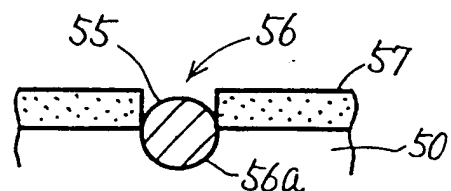


FIG. 6B

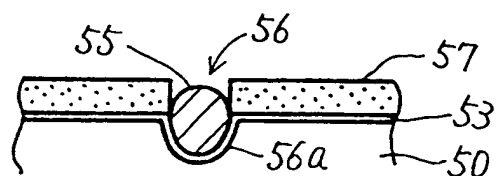


FIG. 6C

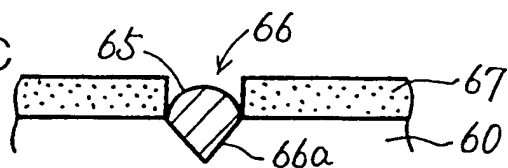


FIG. 6D

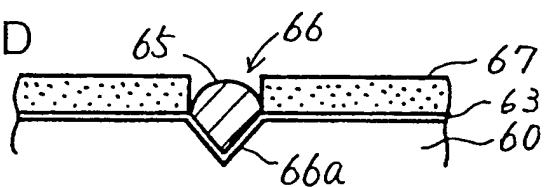
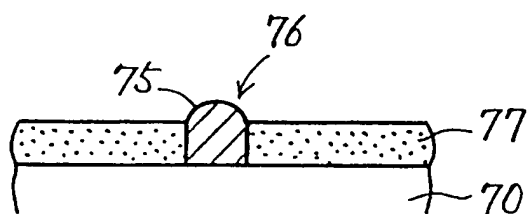


FIG. 6E



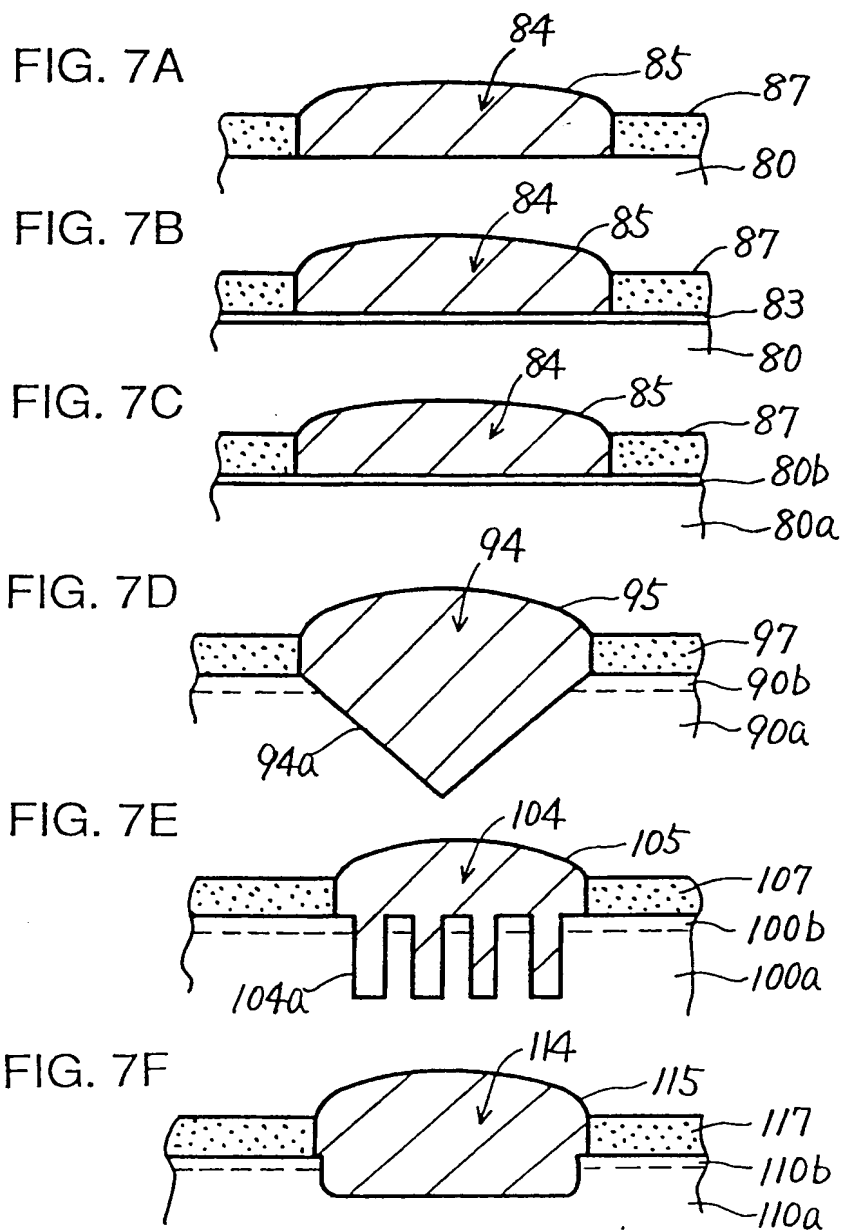


FIG. 8

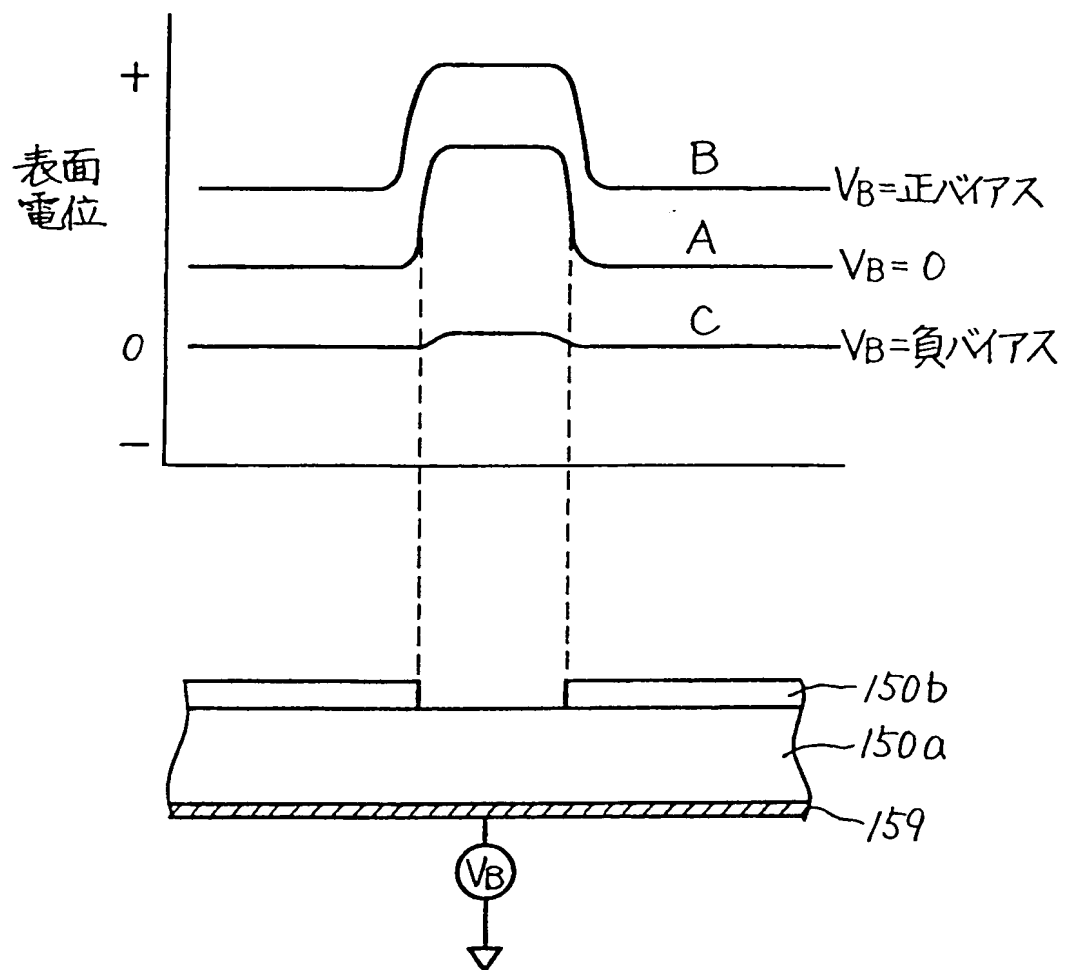


FIG. 9

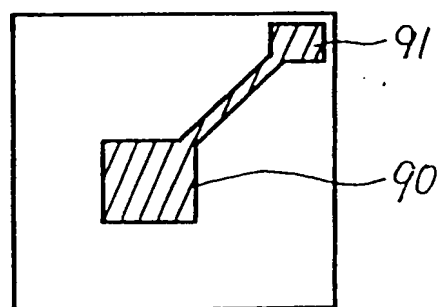


FIG. 10A

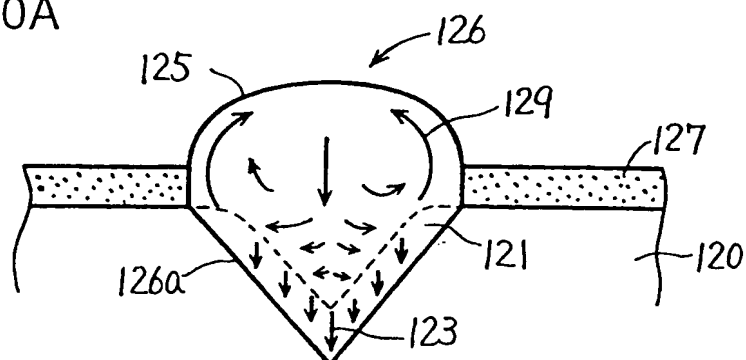


FIG. 10B

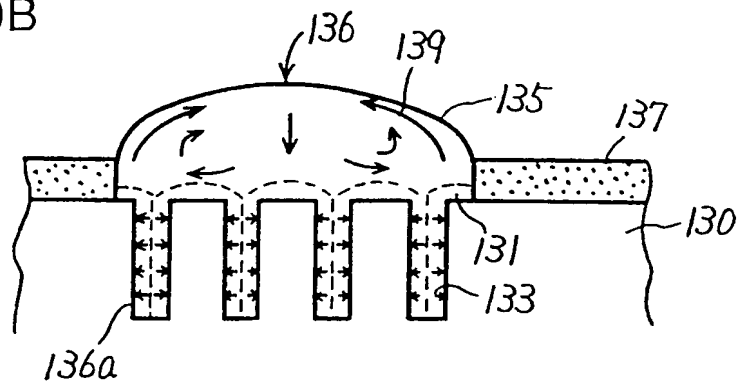


FIG. 10C

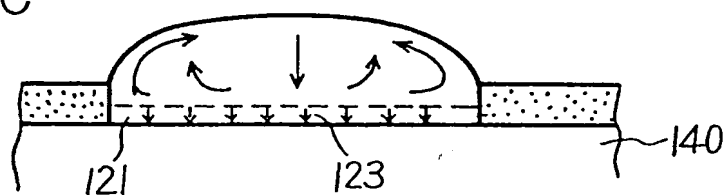


FIG. 11

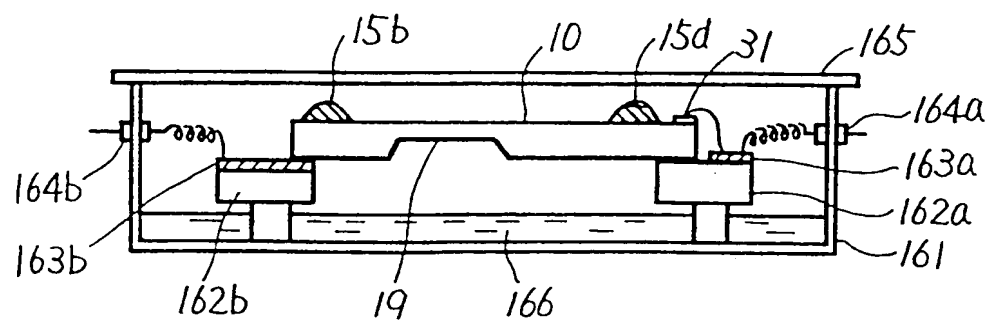


FIG. 12

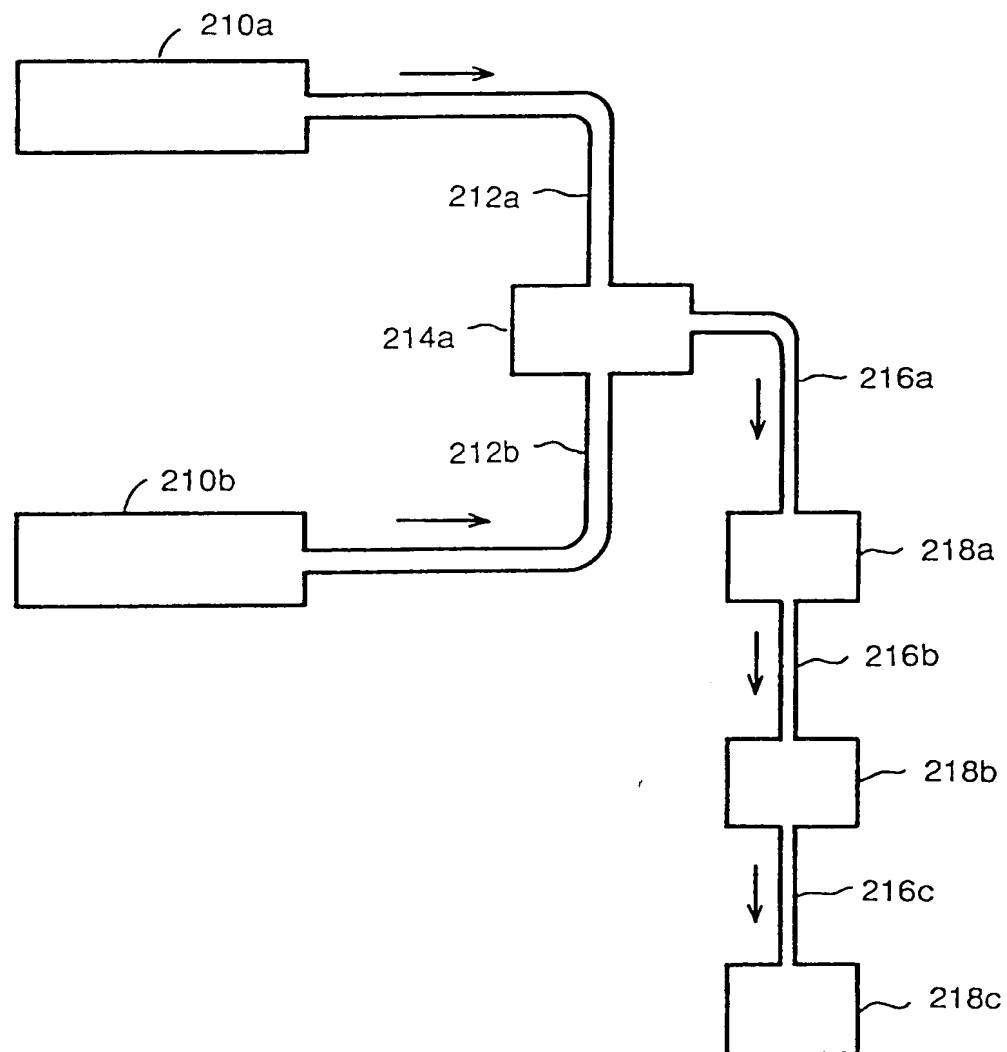


FIG. 13

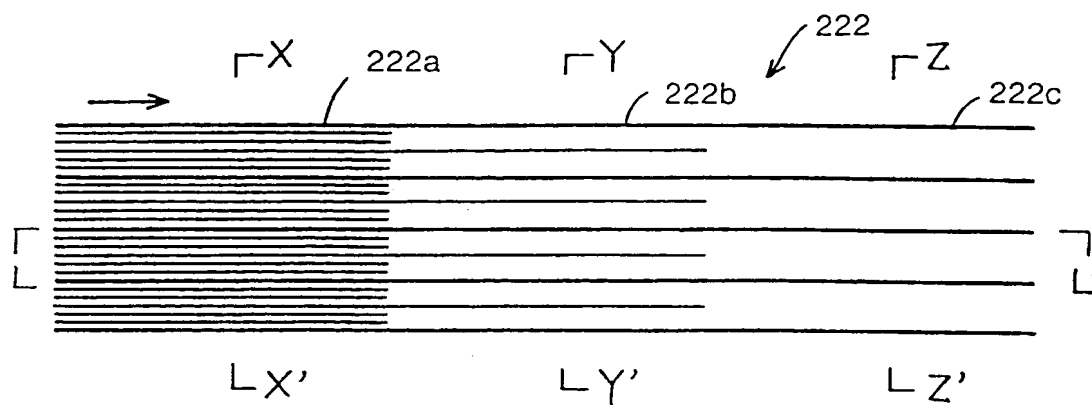


FIG. 14

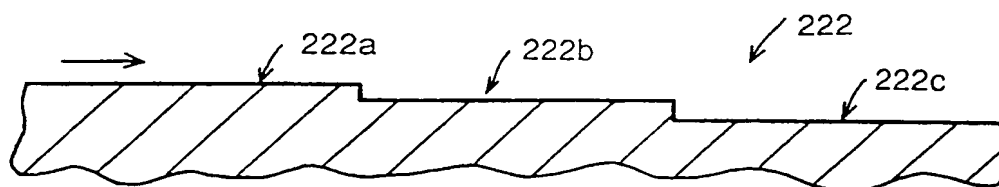


FIG. 15A

X - X'

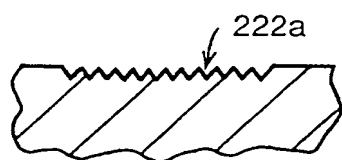


FIG. 15B

Y - Y'

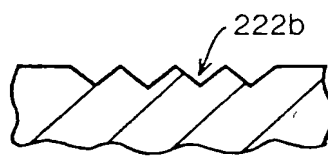


FIG. 15C

Z - Z'

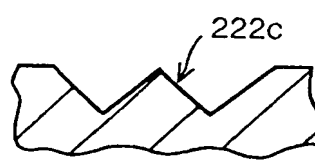


FIG. 16

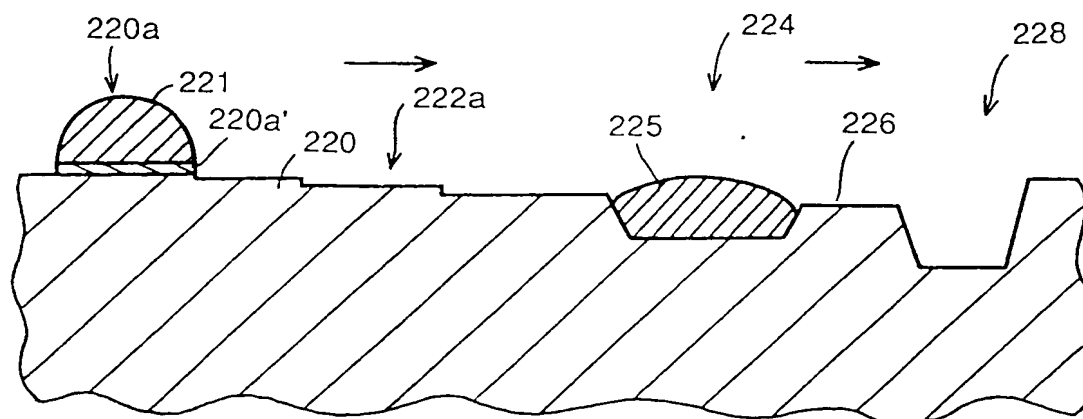


FIG. 17

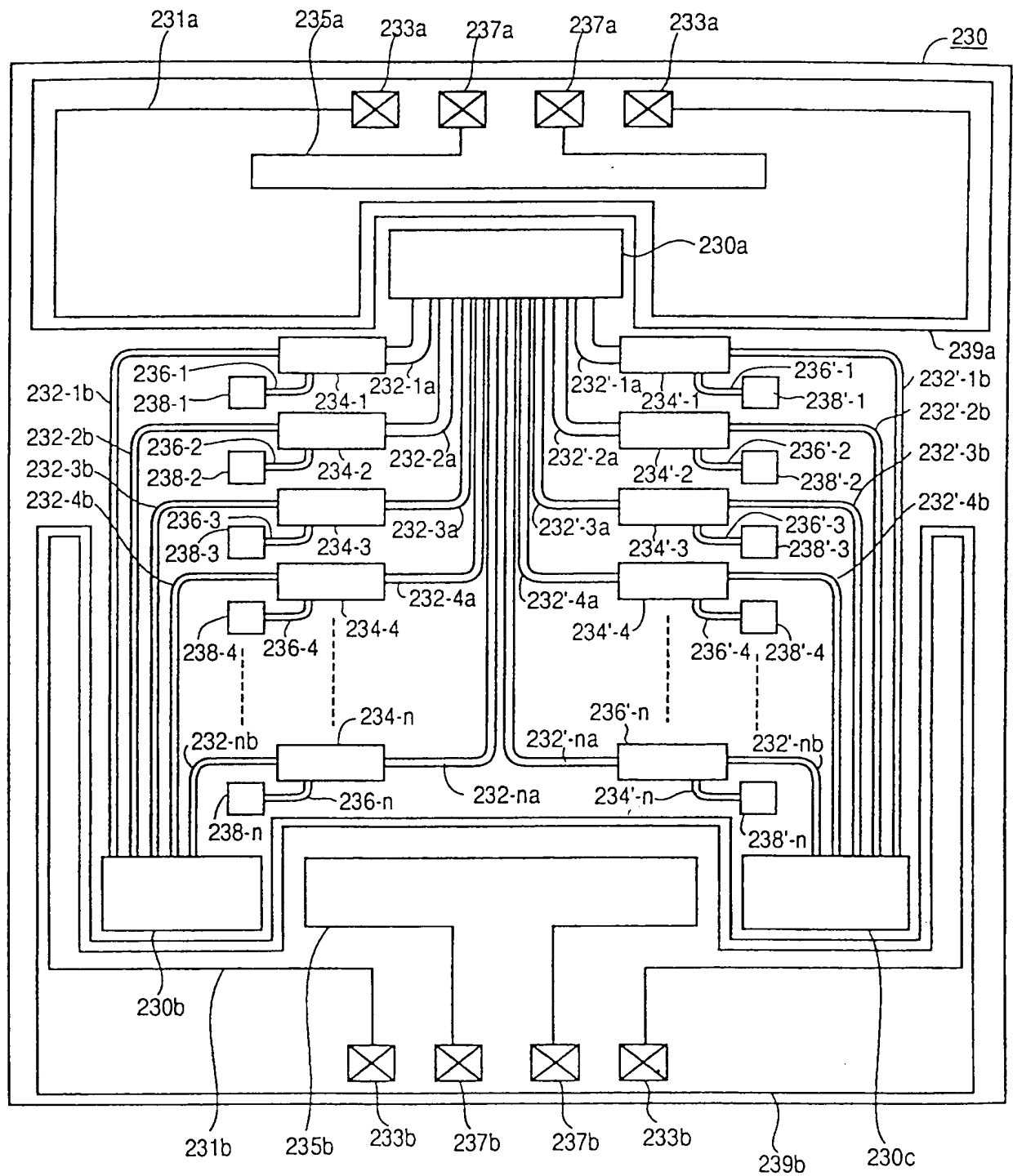


FIG. 18A

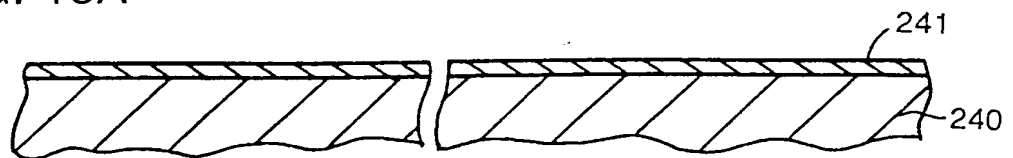


FIG. 18B

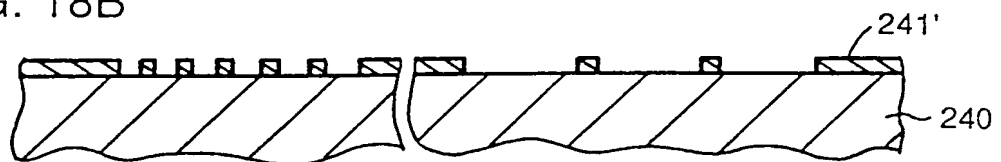


FIG. 18C

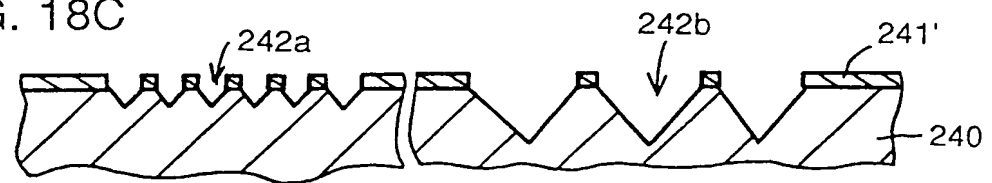


FIG. 18D



FIG. 19

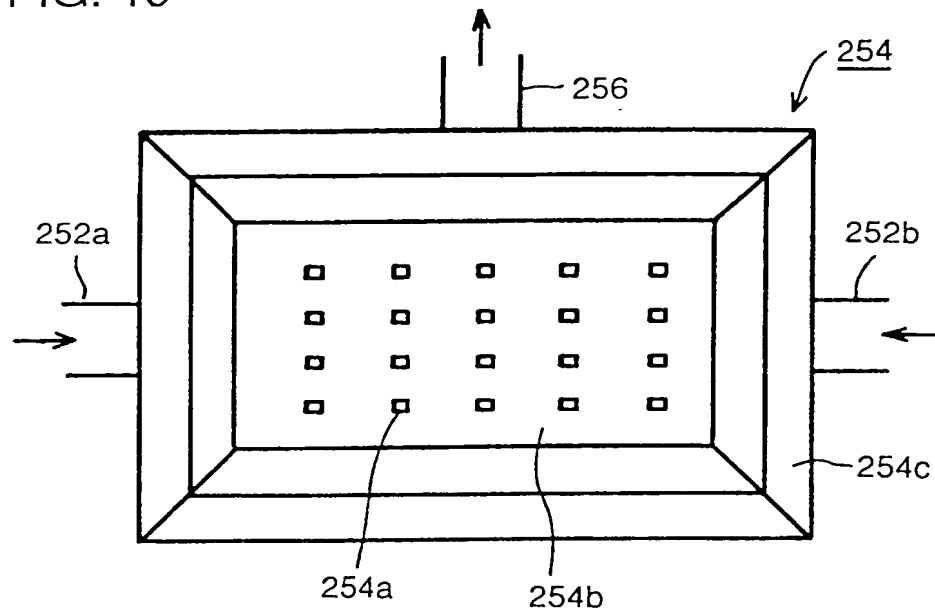


FIG. 20

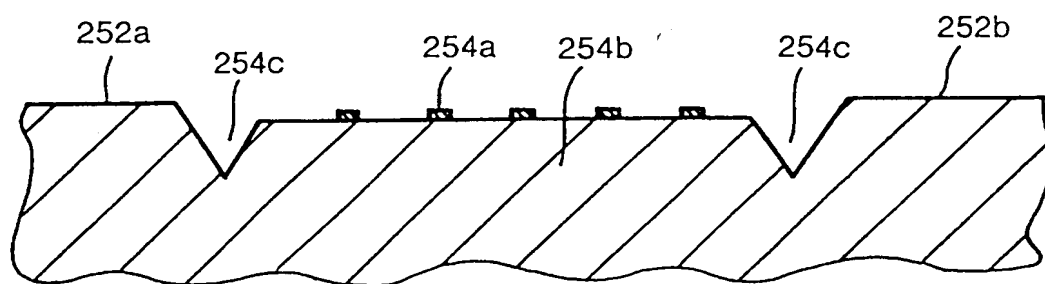


FIG. 21

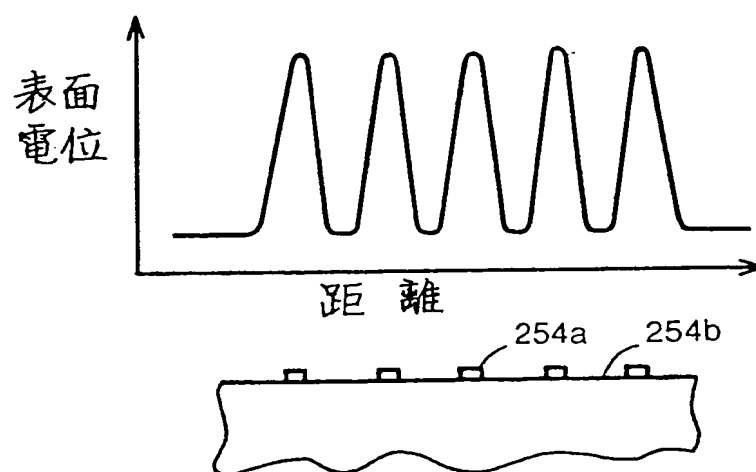


FIG. 22

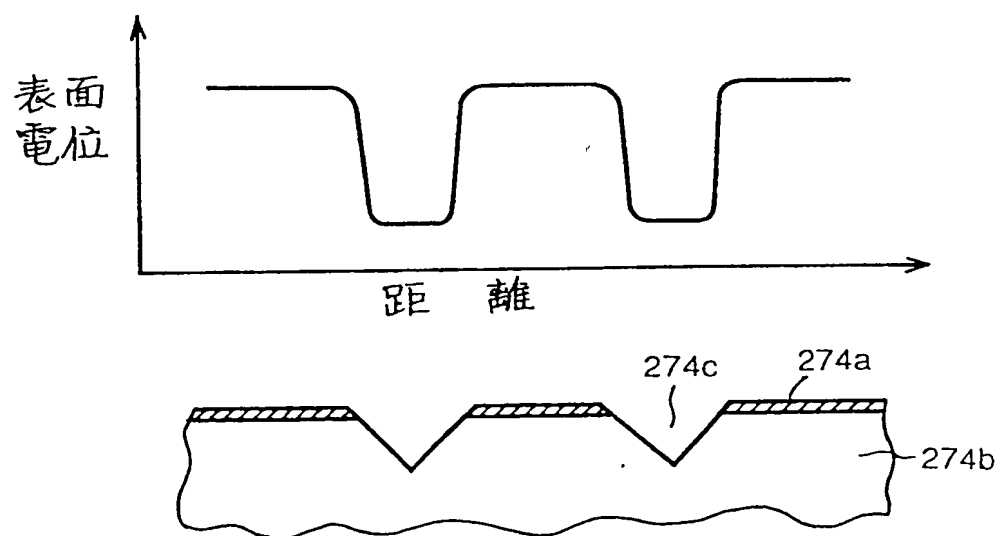


FIG. 23A

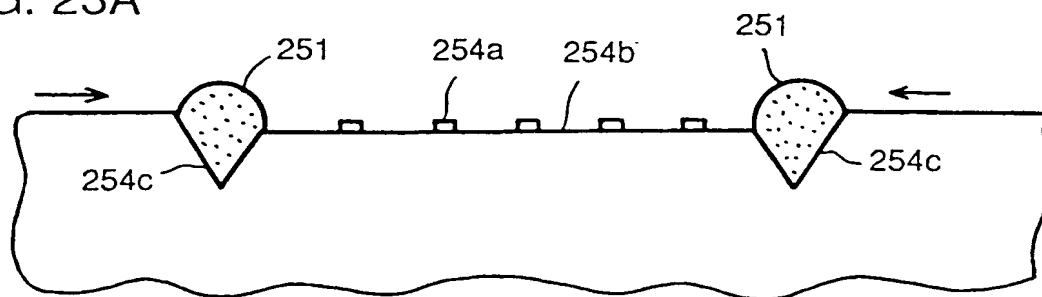


FIG. 23B

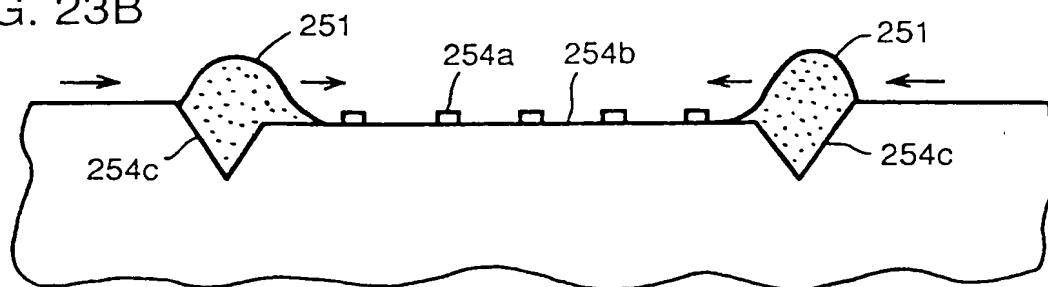


FIG. 23C

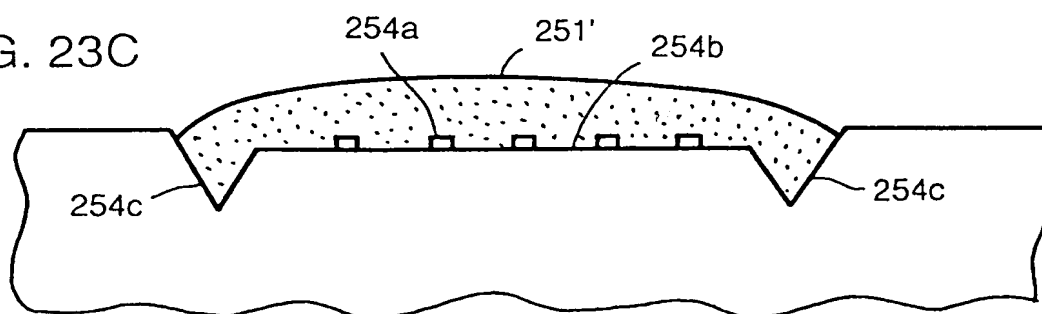


FIG. 24

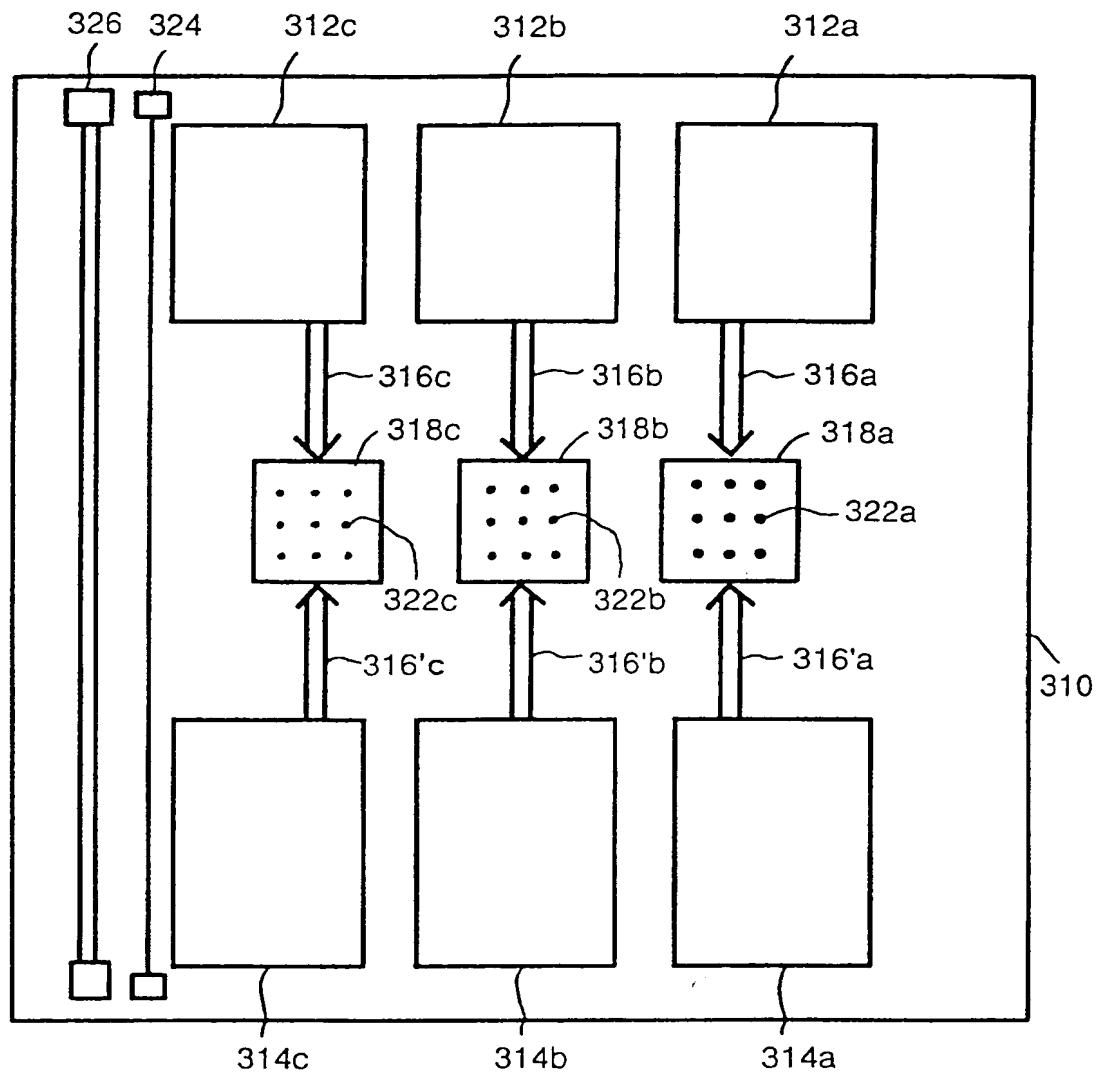


FIG. 25

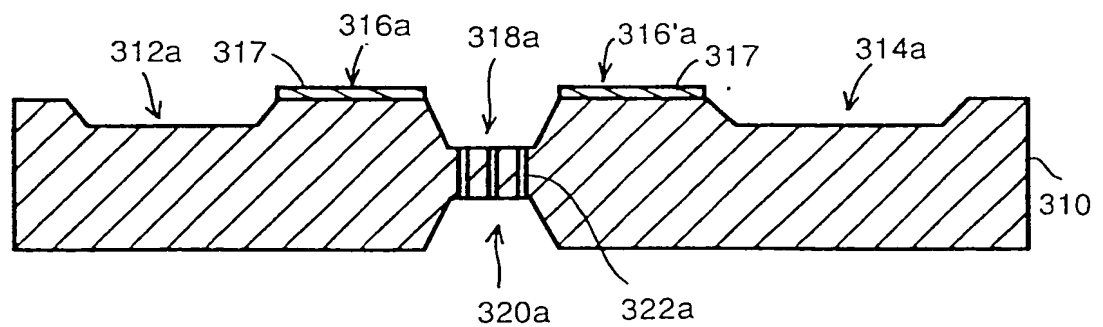


FIG. 26A

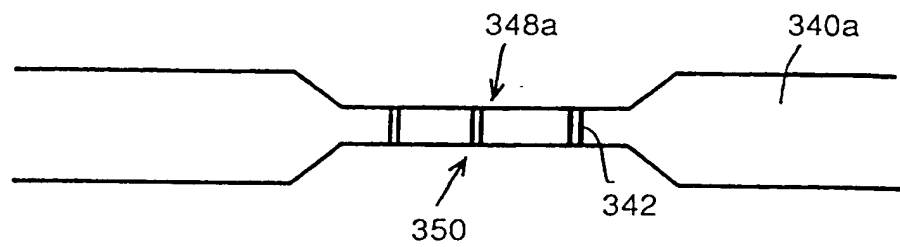


FIG. 26B

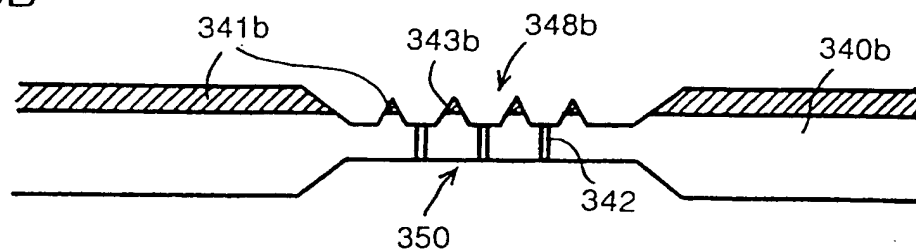


FIG. 26C

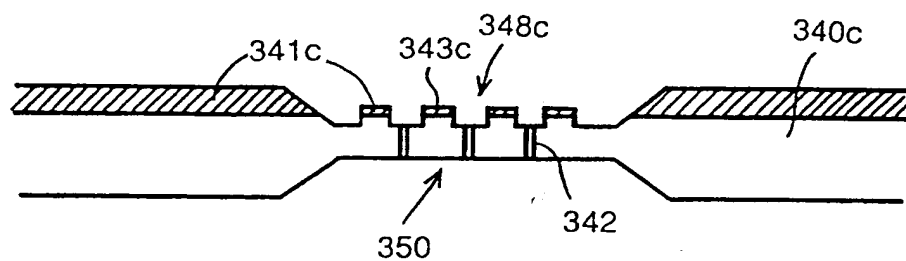


FIG. 26D

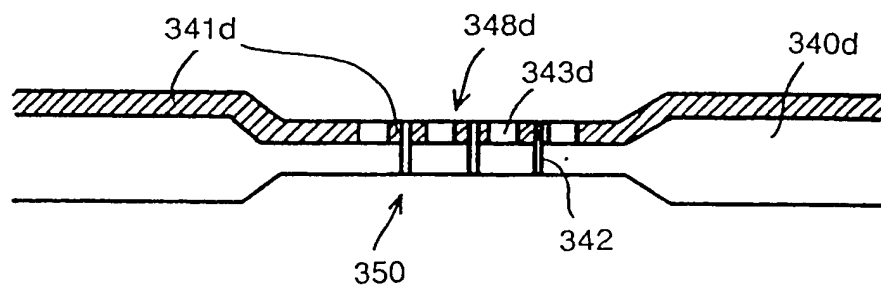


FIG. 27

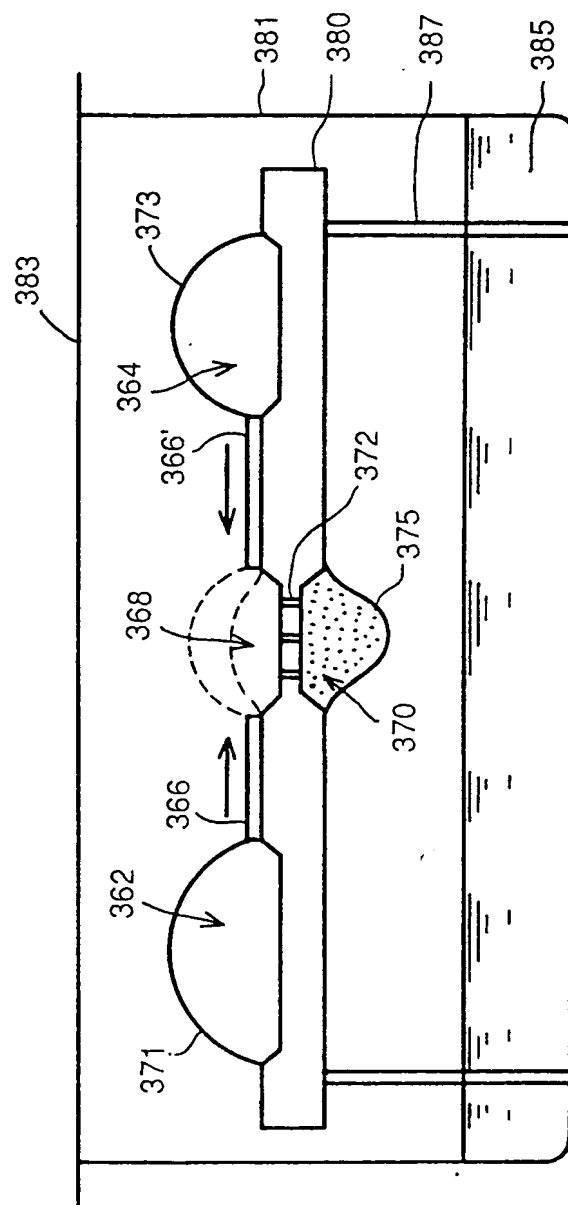


FIG. 28A

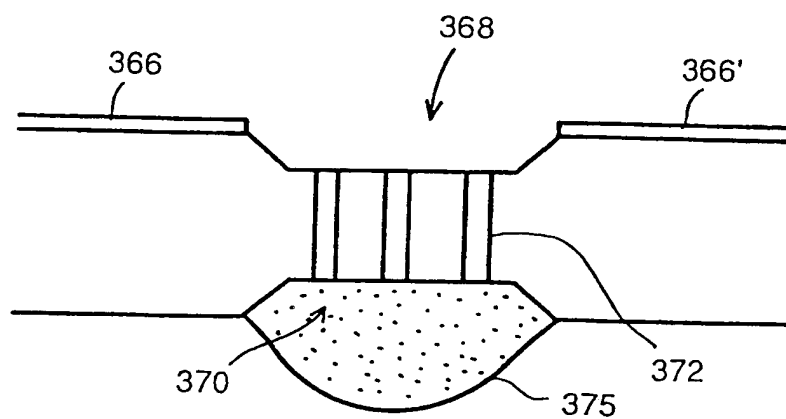


FIG. 28B

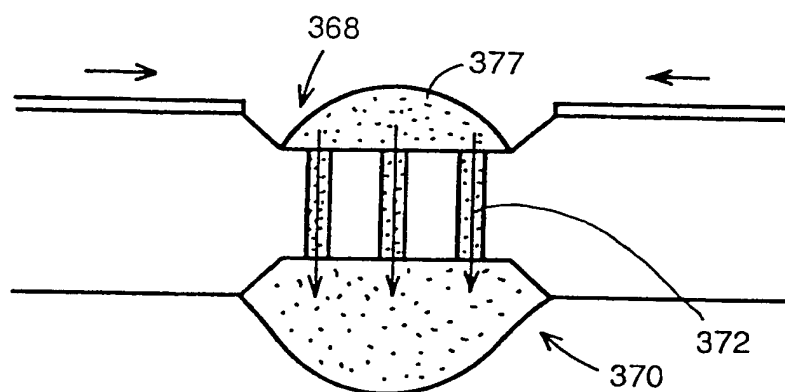


FIG. 28C

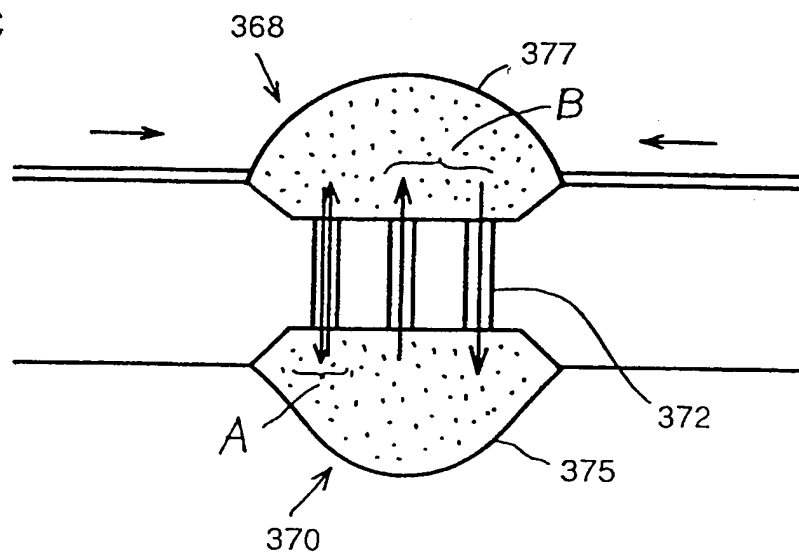


FIG. 29A

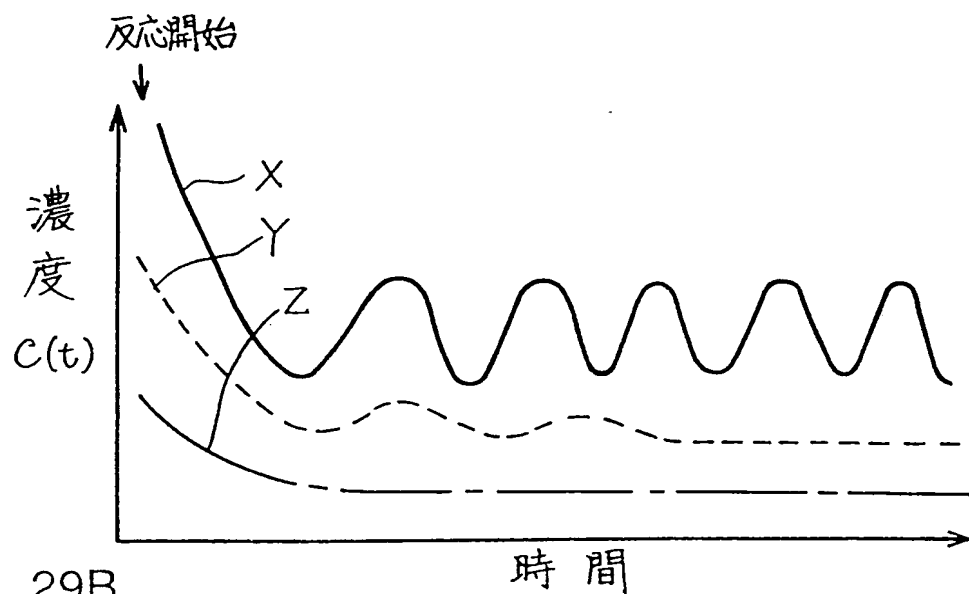


FIG. 29B

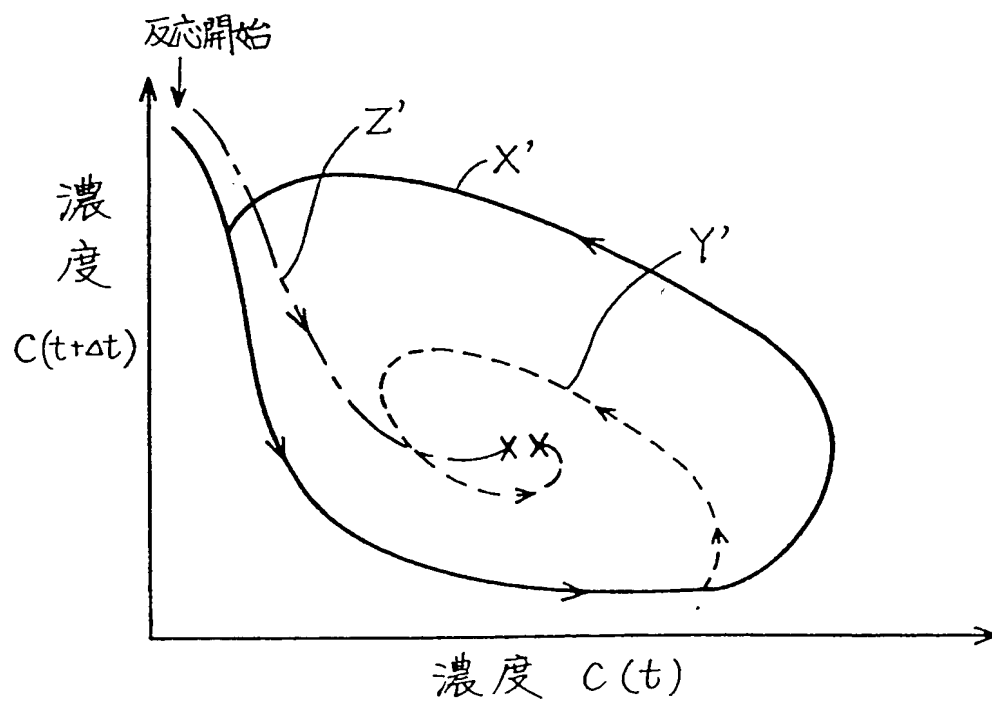


FIG. 30

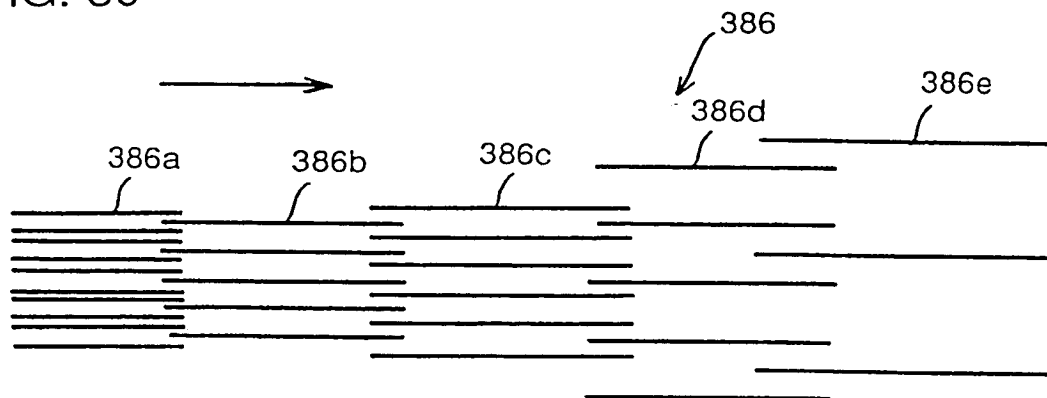


FIG. 31A

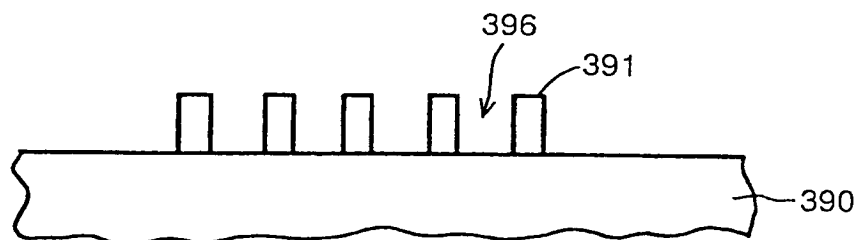


FIG. 31B

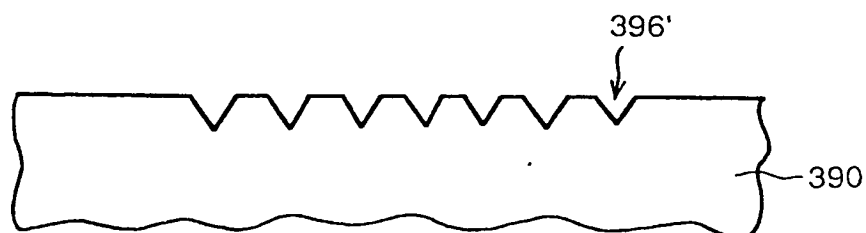


FIG. 32

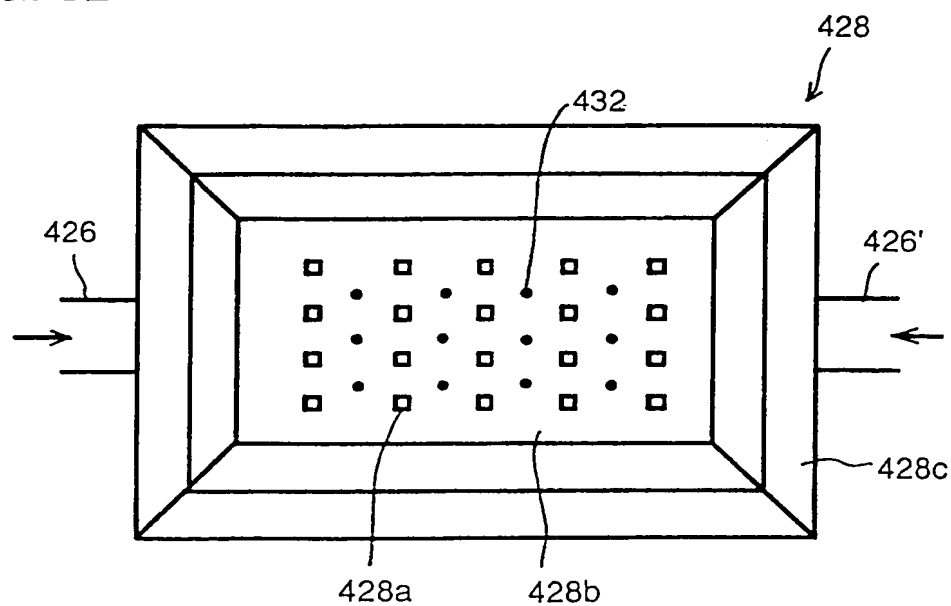


FIG. 33

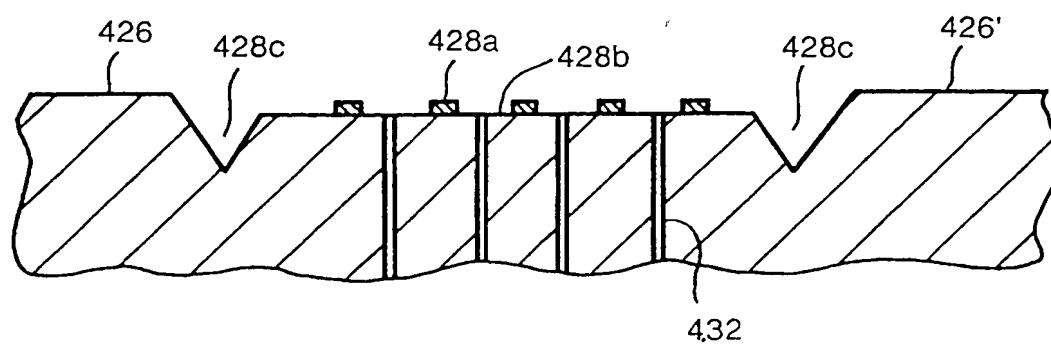


FIG. 34

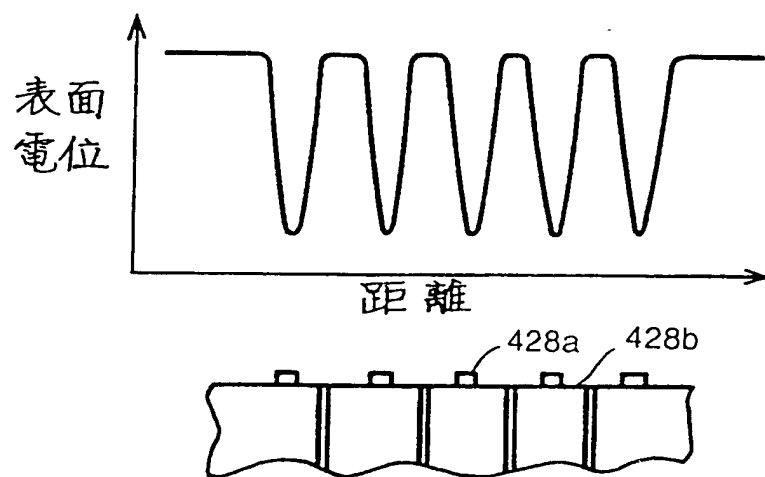


FIG. 35

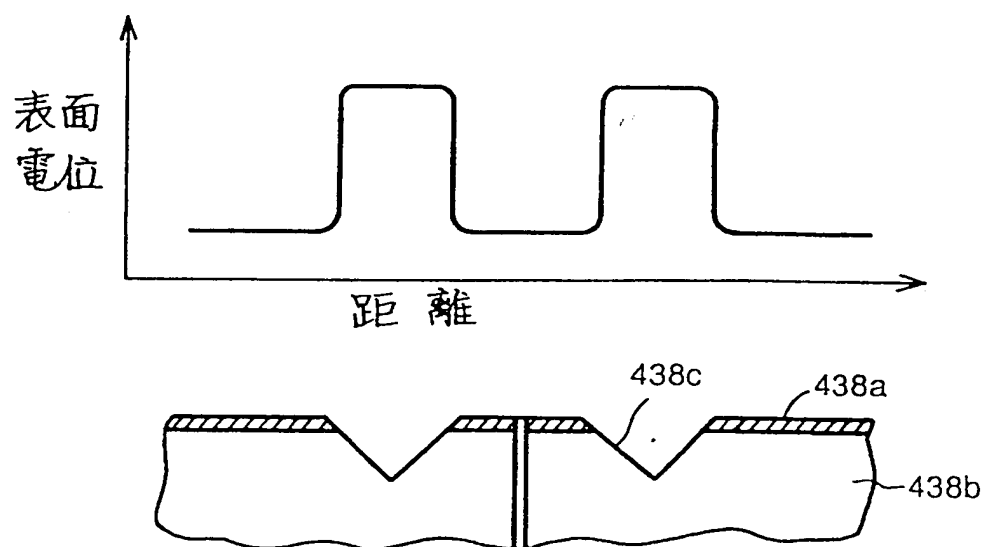


FIG. 36A

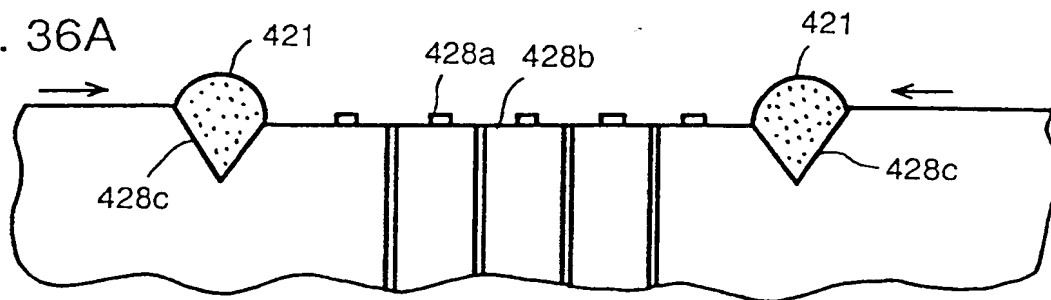


FIG. 36B

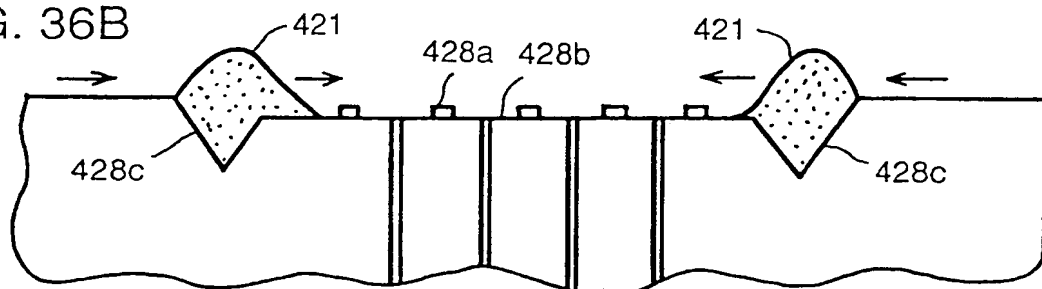


FIG. 36C

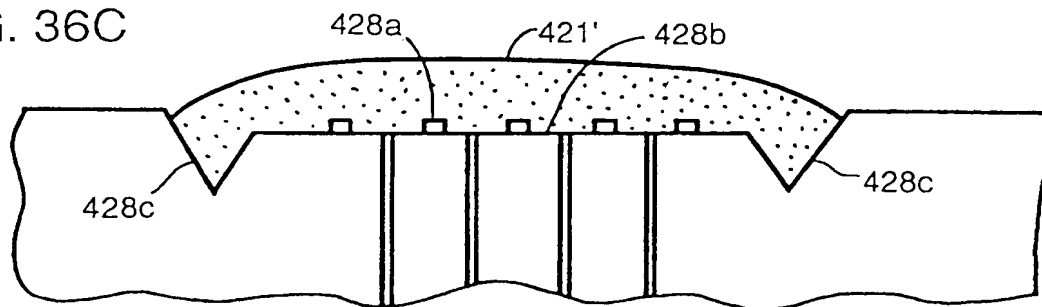


FIG. 37

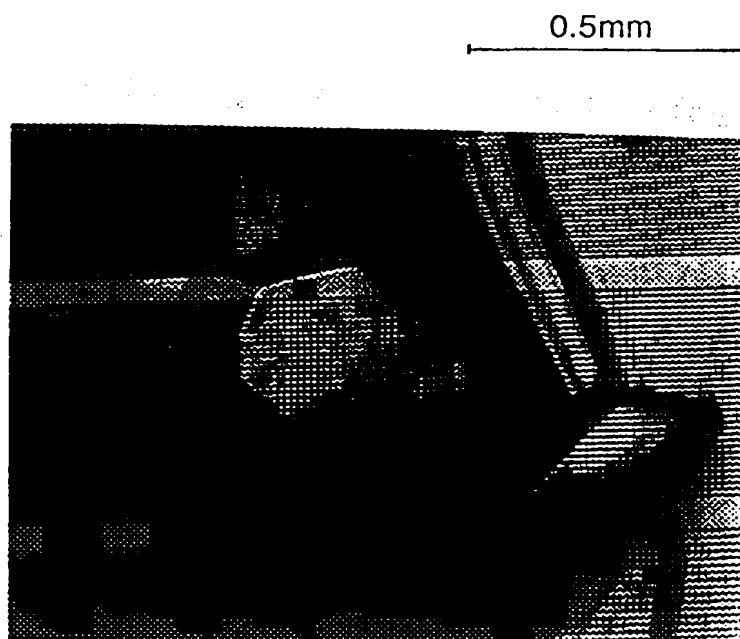


FIG. 38

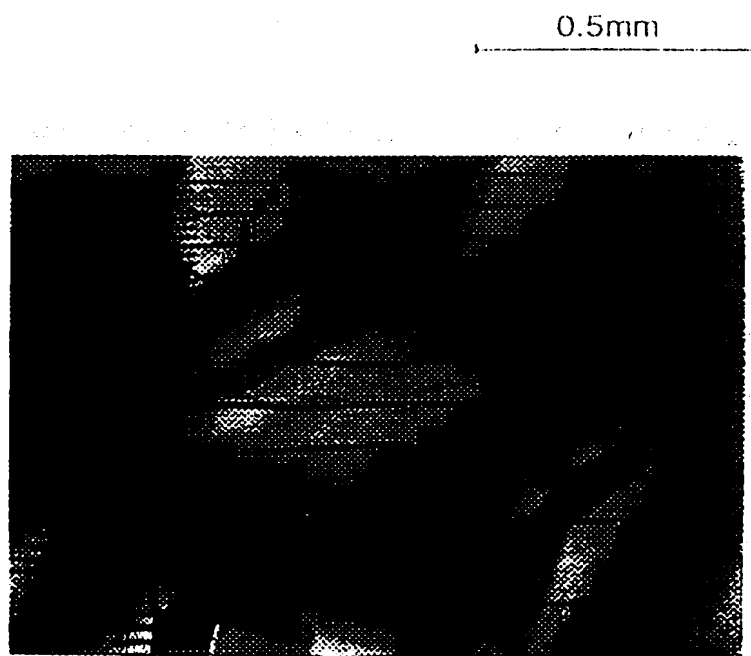


FIG. 39

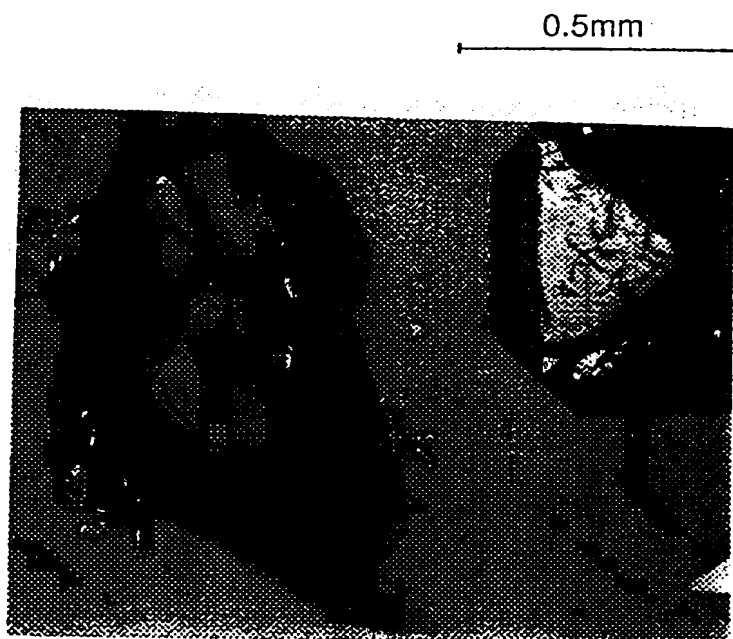


FIG. 40

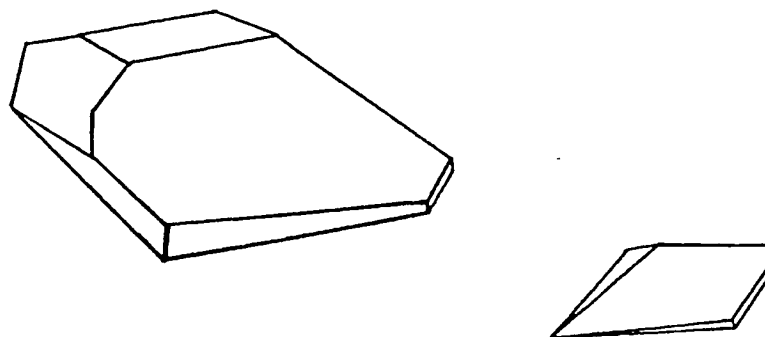


FIG. 41

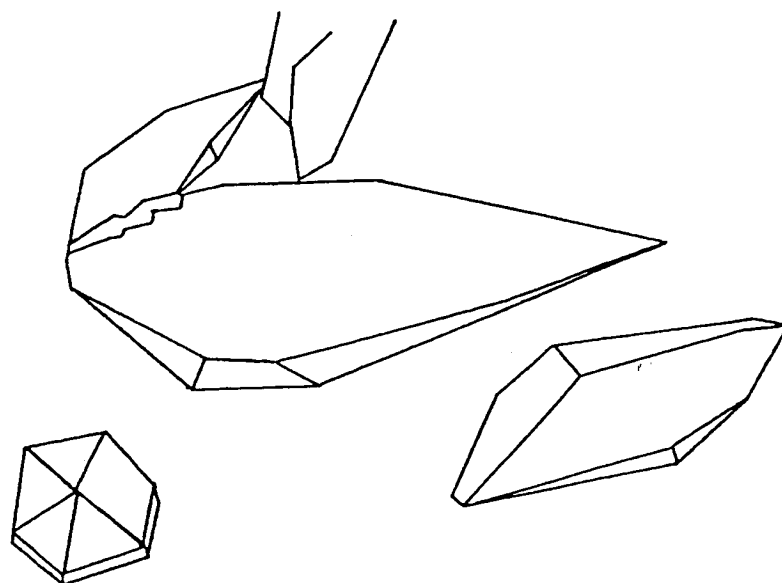


FIG. 42

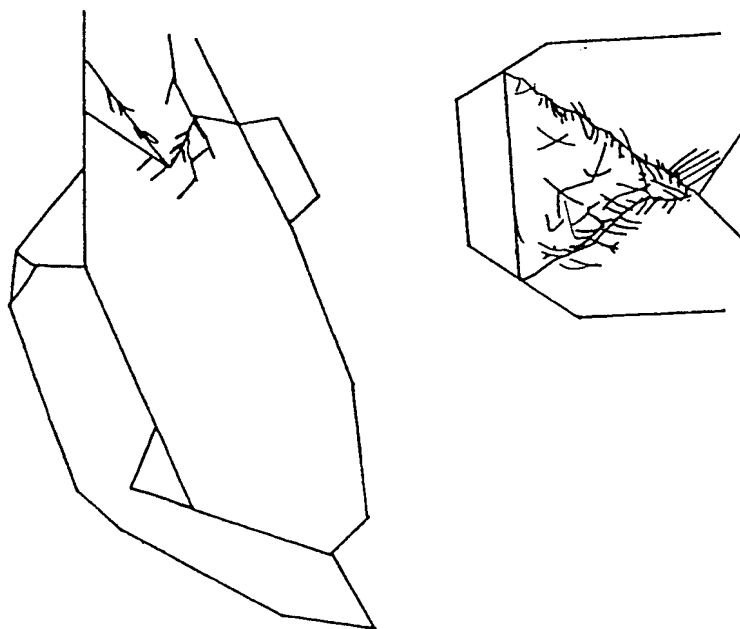


FIG. 43

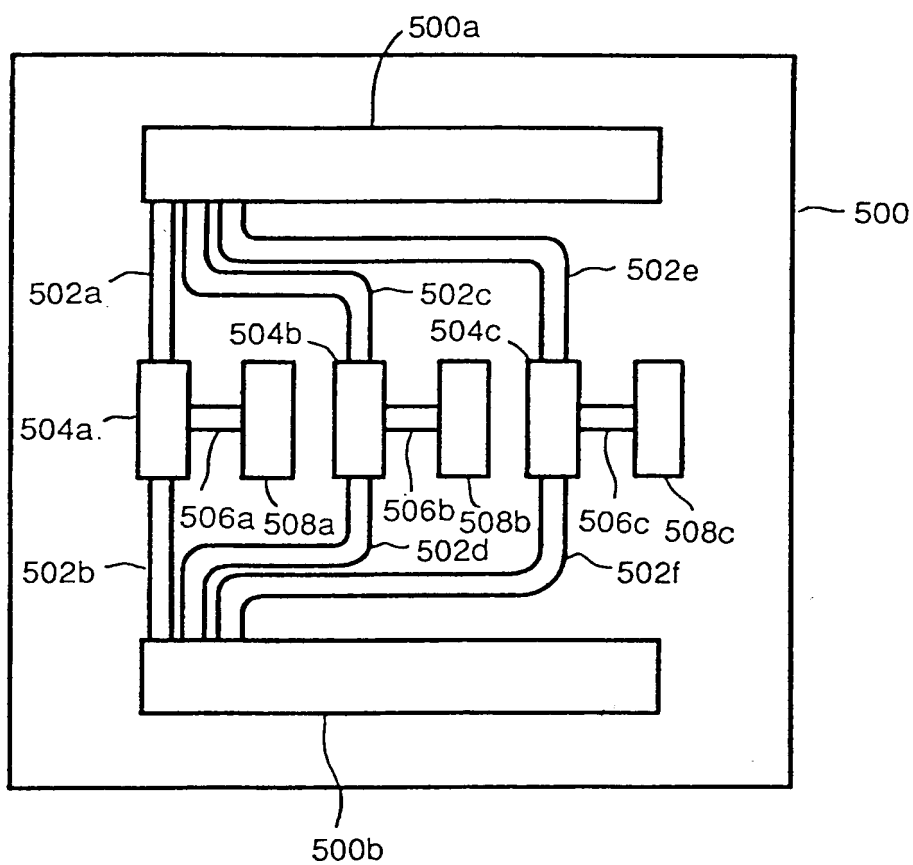


FIG. 44

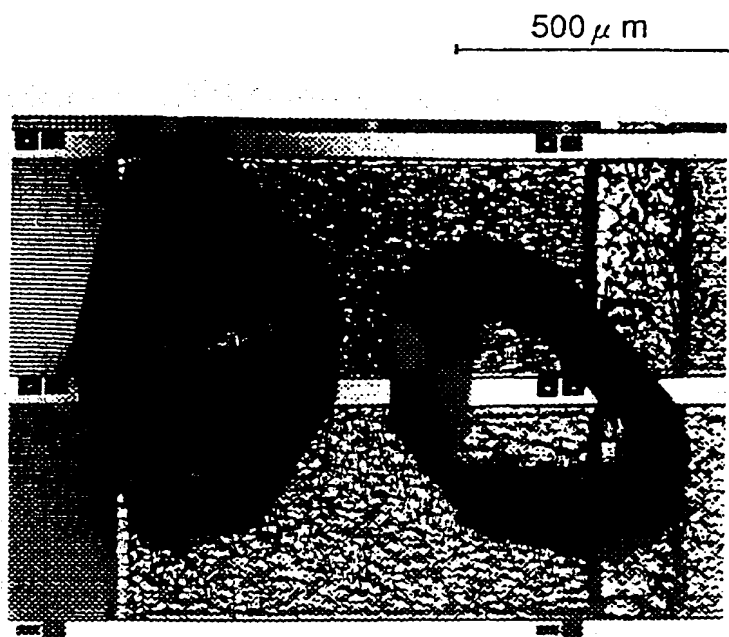


FIG. 45

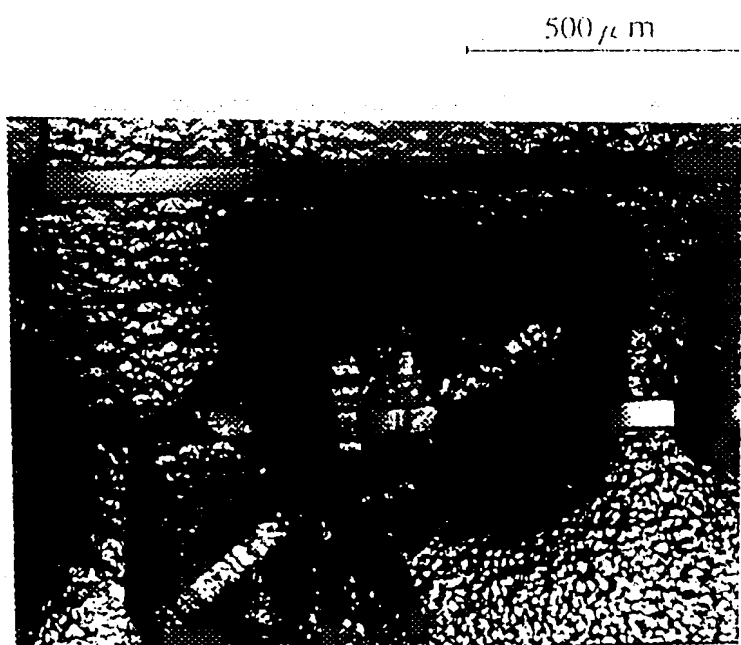


FIG. 46

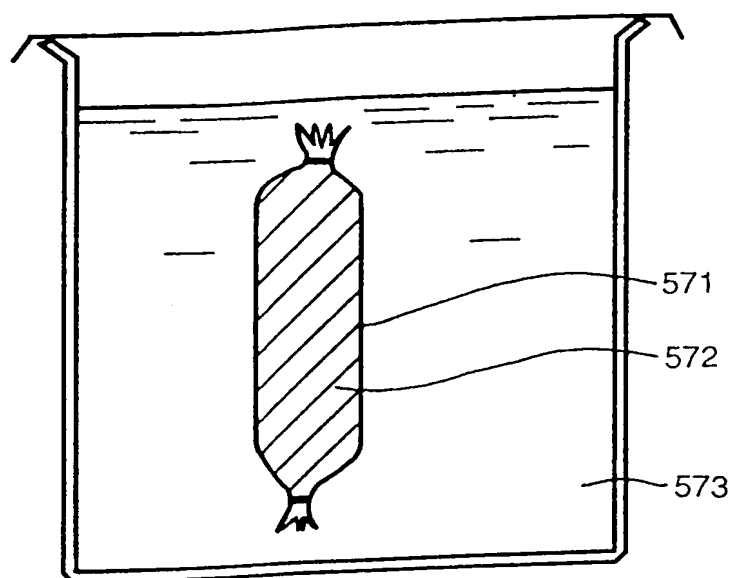


FIG. 47

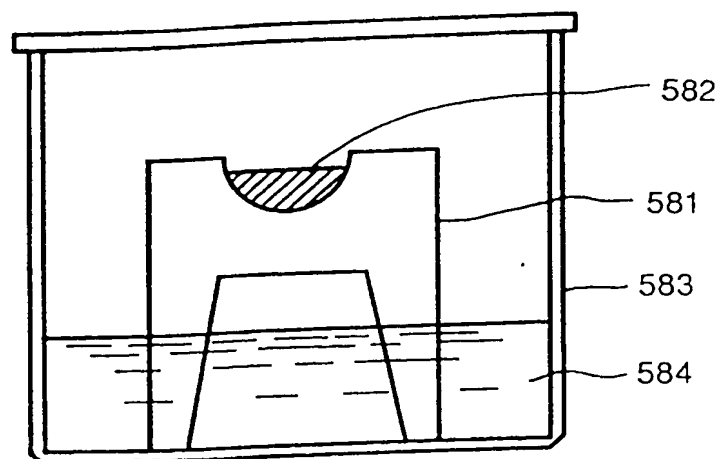
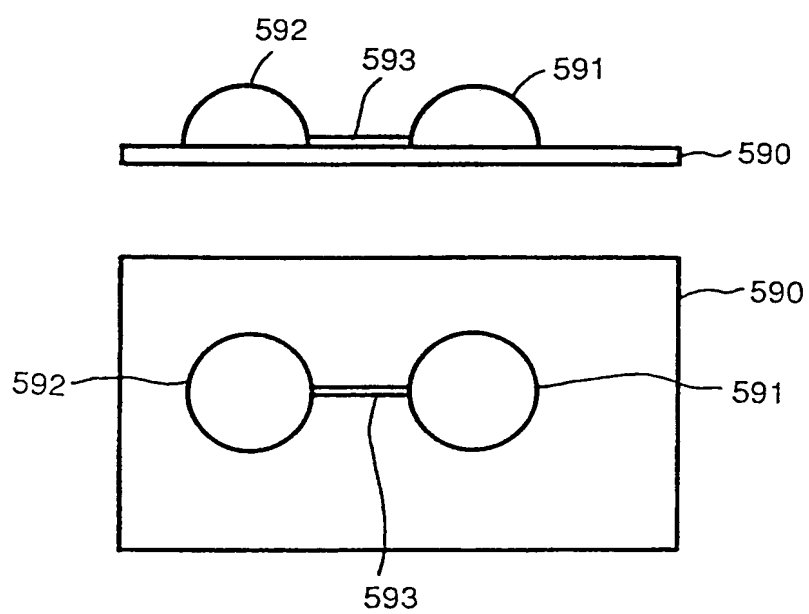


FIG. 48



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/02359

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. C1⁶ C30B29/58, C07H21/00, C07K1/14, C08H1/00, C12N9/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. C1⁶ C30B29/58, C07H21/00, C07K1/14, C08H1/00, C12N9/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926 - 1997
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971 - 1997
Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994 - 1997

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 8-34699, A (Fujitsu Ltd.), February 6, 1996 (06. 02. 96), Pages 1, 2 (Family: none)	1 - 46
A	JP, 2-18373, A (Fujitsu Ltd.), January 22, 1990 (22. 01. 90), Page 1 & US, 4990216, A	1 - 46

☐

Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

September 2, 1997 (02. 09. 97)

Date of mailing of the international search report

October 7, 1997 (07. 10. 97)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C30B 29/58, C07H 21/00, C07K 1/14, C08H 1/00,
C12N 9/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C30B 29/58, C07H 21/00, C07K 1/14, C08H 1/00,
C12N 9/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1926-1997年
日本国公開実用新案公報	1971-1997年
日本国登録実用新案公報	1994-1997年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 8-34699, A (富士通株式会社), 06. 2月. 1986 (06. 02 . 96), 第1頁および第2頁 (ファミリーなし)	1-46
A	J P, 2-18373, A (富士通株式会社), 22. 1月. 1990 (22. 01 . 90), 第1頁, &US, 4990216, A	1-46

☐ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

02. 09. 97

国際調査報告の発送日

07.10.97

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

雨宮 弘治

4 G

7202

電話番号 03-3581-1101 内線 3418